

**Aus dem Institut für Pathologie der Universität Tübingen
Abteilung Allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie
Abteilungsleiter: Professor Dr. B. Bültmann**

**Prävalenz von
Parvovirus B19 und des Humanen Herpesvirus 6
in Endomyokardbiopsien unter besonderer
Berücksichtigung der inflammatorischen
Kardiomyopathie**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

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

**vorgelegt von
SASCHA THOMAS TACHLINSKI
aus Albstadt**

2005

D e k a n : Professor Dr. C. D. Claussen
1. Berichterstatter: Professor Dr. B. Bültmann
2. Berichterstatter: Professor Dr. R. Haasis

**„Die Neugier steht immer an erster Stelle
eines Problems, das gelöst werden will“**

Galileo Galilei

(15.02.1564-08.01.1642)

italienischer Physiker und Astronom

Inhalt

1 EINLEITUNG

1.1 HUMANES PARVOVIRUS B19 (PVB19).....	2
1.1.1 Taxonomie und Biochemie	2
1.1.2 Epidemiologie und Immunologie.....	5
1.1.3 Klinische Manifestationen	6
1.1.3.1 Erythema infectiosum	6
1.1.3.2 Aplastische Anämie	7
1.1.3.3 Kardiale Manifestationen.....	9
1.2 HUMANES HERPESVIRUS 6 (HHV6).....	9
1.2.1 Taxonomie und Biochemie	9
1.2.2 Epidemiologie und Immunologie.....	14
1.2.3 Klinische Manifestationen	14
1.2.3.1 Exanthema subitum.....	15
1.2.3.2 Kardiale Manifestationen.....	16
1.3 ZIELE DER VORLIEGENDEN ARBEIT	17

2 MATERIAL UND METHODIK

2.1 BIOPTISCHES MATERIAL.....	18
2.2 KONVENTIONELLE FÄRBUNGEN	19
2.2.1 Berliner-Blau-Färbung	20

2.2.2	PAS-Färbung.....	20
2.2.3	Giemsa-Färbung nach Gaffney	20
2.2.4	Hämalaun-Eosin-Färbung nach Mayer	20
2.2.5	Kongo-Rot-Färbung nach Puchtler	21
2.2.6	Luxol-fast-blue-Färbung	21
2.2.7	Masson´s Trichrom-Färbung.....	21
2.3	IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNGEN.....	22
2.3.1	T-Lymphozyten.....	24
2.3.2	B-Lymphozyten.....	24
2.3.3	Makrophagen.....	24
2.3.4	Mastzellen	24
2.3.5	Aktivierte Endothelzellen.....	24
2.3.6	Glatte Muskelzellen	25
2.3.7	HLA-Klasse-II-DR.....	25
2.4	HISTOLOGISCHE DIAGNOSESTELLUNG.....	25
2.5	MOLEKULARBIOLOGISCHE UNTERSUCHUNG.....	27
2.5.1	Allgemeines.....	27
2.5.2	Polymerasekettenreaktion	28
2.6	EDTA-BLUT.....	31
2.7	KLINISCHE DATEN.....	31
2.7.1	Klinische Diagnose	31
2.7.2	Klinische Parameter	32

2.7.2.1	Erkrankungsdauer	32
2.7.2.2	Ejektionsfraktion.....	32
2.7.2.3	Grad der Herzinsuffizienz nach NYHA.....	32
2.8	DATENERFASSUNG.....	33
2.9	AUSWERTUNG	38
2.9.1	Studienpatienten.....	38
2.9.1.1	Auswahlkriterien.....	38
2.9.1.2	Bildung von Diagnosegruppen.....	38
2.9.2	Kontrollgruppe	39
2.9.3	Statistik.....	39
3	ERGEBNISSE	
3.1	STUDIENKOLLEKTIV.....	42
3.1.1	Verteilung von Alter und Geschlecht.....	42
3.1.2	Histologie	43
3.1.2.1	Patientenkollektiv.....	43
3.1.2.2	Kontrollgruppe.....	46
3.2	PRÄVALENZ VON PVB19 UND HHV6.....	46
3.3	ALTER UND GESCHLECHT BEI VIRUSNACHWEIS	47
3.4	PATHOMORPHOLOGISCHE BEFUNDE.....	50
3.4.1	Klassifizierung der Befunde.....	50
3.4.2	Korrelation von Diagnose und Virusnachweis	55

3.4.3	Korrelation von entzündlicher Reaktion und Virusnachweis	57
3.4.4	Statistischer Vergleich der untersuchten Gruppen	59
3.5	KLINISCHE DIAGNOSE	63
3.5.1	Klinische Diagnose im Patientenkollektiv	63
3.5.2	Klinische Diagnose bei Virusnachweis.....	64
3.6	KLINISCHE PARAMETER	66
3.6.1	Erkrankungsdauer	67
3.6.1.1	Erkrankungsdauer im Patientenkollektiv	67
3.6.1.2	Erkrankungsdauer bei Virusnachweis.....	68
3.6.2	NYHA	70
3.6.2.1	NYHA im Patientenkollektiv.....	70
3.6.2.2	NYHA bei Virusnachweis	71
3.6.3	Ejektionsfraktion	74
3.6.3.1	Ejektionsfraktion im Patientenkollektiv.....	74
3.6.3.2	Ejektionsfraktion bei Virusnachweis	76
3.7	PRÄVALENZ VON PVB19 UND HHV6 IM PERIPHEREN BLUT	78
3.7.1	Systemischer Nachweis von PVB19	78
3.7.2	Systemischer Nachweis von HHV6	82
3.8	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE.....	87
3.9	GÜTE DES STATISTISCHEN MODELLS	91

4 DISKUSSION

4.1 ALLGEMEINES	93
4.2 ERGEBNISDISKUSSION	94
4.2.1 Bedeutung des Nachweises von PVB19 im Myokard	94
4.2.2 Bedeutung des Nachweises von HHV6 im Myokard	96
4.2.3 Bedeutung des simultanen Nachweises von PVB19 und HHV6	98
4.2.4 Korrelation von PVB19 und HHV6 bezüglich klinischer Diagnose und klinischer Parameter	99
4.2.5 Systemischer Nachweis von PVB19 und HHV6	101
4.3 VERGLEICH MIT VORAUSGEGANGENEN STUDIEN.....	103
4.4 THERAPEUTISCHE ASPEKTE.....	109
4.5 SCHLUSSFOLGERUNGEN.....	110

5 ZUSAMMENFASSUNG

6 LITERATUR

1 Einleitung

Die inflammatorische Kardiomyopathie gehört entsprechend der WHO-Klassifikation zu den spezifischen Kardiomyopathien und ist definiert als Myokarditis, welche mit einer kardialen Dysfunktion einhergeht [85, 117]. Diagnostik und Therapie der inflammatorischen Kardiomyopathie gestalten sich auch heute noch schwierig. Die Diagnose wird oft mittels klinischer Parameter wie der Rechts- oder Linksherzinsuffizienz, segmentalen Wandbewegungsstörungen und der Dilatation des linken Ventrikels mit Hilfe von Ventrikulographie und Echokardiographie gestellt [84]. Die invasive Entnahme von Endomyokardbiopsien gibt die Möglichkeit zur weitergehenden Diagnostik am myokardialen Gewebe [64]. Die Untersuchung morphologischer Veränderungen erfolgte lange nur mittels konventioneller histologischer Färbetechniken [6]. Die Einführung immunhistochemischer Methoden unter Einsatz spezifischer Antikörper hat die Möglichkeit einer Charakterisierung des Phänotypus der Entzündungszellen geschaffen [39]. Die heute weitgehend etablierte Anwendung molekularbiologischer Methoden zum Nachweis genetischer Sequenzen verschiedener kardiotoxischer Erreger komplettiert die Diagnostik (Tripeldiagnostik) durch Charakterisierung des Genotypus und hat zu einer erheblichen Verbesserung des Verständnisses der Pathogenese der inflammatorischen Kardiomyopathie geführt [18, 67, 73, 84, 106, 107]. Neben der Möglichkeit einer Klärung der ätiologischen Zusammenhänge bietet sich durch diese Methoden auch eine Erhöhung der diagnostischen Sicherheit für den Pathologen [66]. Die bisherige Forschung konnte vor allem Enteroviren der Gruppe B, Adenoviren und Herpesviren als wichtigste kardiotoxische Erreger aufzeigen [14, 86, 106, 108]. Insgesamt kann in bis zu 50% der Biopsien von Patienten mit entzündlichen Kardiomyopathien RNA¹ oder DNA² kardiotoxischer Viren nachgewiesen werden [67, 86, 107]. In den vergangenen Jahren wurde eine zunehmende Anzahl von Untersuchungen veröffentlicht, welche die

¹ Abkürzung für (engl.) ribonucleic acid (Ribonukleinsäure)

² Abkürzung für (engl.) deoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)

Präsenz genetischer Sequenzen des Humanen Parvovirus B19 (PVB19) sowie des Humanen Herpesvirus 6 (HHV6) im Myokard beschreiben. Dies hat zu der Annahme einer ätiologischen Bedeutung der Viren in der Genese der inflammatorischen und der dilatativen Kardiomyopathie geführt [17, 18, 67, 71, 78, 81]. Beide Viren sind Erreger von überwiegend harmlos verlaufenden Kinderkrankheiten, die unter den Namen fifth (PVB19) und sixth (HHV6) disease bekannt wurden [75].

1.1 HUMANES PARVOVIRUS B19 (PVB19)

1.1.1 Taxonomie und Biochemie

Das Parvovirus B19 wurde 1975 von Yvonne Cossart, einer in London arbeitenden, australischen Virologin bei der Untersuchung von Spenderblut auf Hepatitis B entdeckt. Die untersuchte Serumprobe befand sich auf Position 19 der Platte B [35]. Der Name Parvovirus leitet sich vom lateinischen Wort „parvum“ (klein) ab.

PVB19 gehört in die Familie der Parvoviridae und kommt nur beim Menschen vor. Es besitzt eine lineare Einzelstrang DNA, die mit einem Informationsgehalt von 5,6 kB³ sehr klein ist [112]. Für seine Replikation benötigt das Virus deshalb bestimmte Funktionen der Wirtszelle, die es während der S-Phase der Mitose in Anspruch nimmt. Die DNA kodiert für drei Proteine. Dies sind zum einen zwei Kapsidproteine, VP1 und VP2, und zum anderen ein Nichtstrukturprotein NS1. VP1 hat ein Molekulargewicht von 84 kDa⁴ und bildet etwa 5 % des Kapsids. Es besitzt eine Region, die mit dem zellulären Rezeptor interagieren kann. VP2 hat ein Molekulargewicht von 58 kDa und bildet etwa 95% des Kapsids. Morphologisch bilden die Proteine ein ikosaederförmiges Kapsid mit einem Durchmesser von 18nm bis 26nm [29, 150, 151]. Für VP2 konnte ein inhibierender Effekt auf die Hämatopoese in vitro sowie in vivo nachgewiesen werden [100]. NS1 erfüllt verschiedene Aufgaben bei der Replikation des Virus und kann die Apoptose der Wirtszelle induzieren [75, 91, 92, 104].

³ Abkürzung für Kilobasen

⁴ Abkürzung für Kilodalton, atomare Masseneinheit

Als zellulärer Rezeptor von PVB19 konnte 1993 das Blutgruppen-P-Antigen, ein Glykoprotein, identifiziert werden [15]. Dieses Membranprotein wird hauptsächlich von erythroiden Vorläuferzellen aber auch von frühen myeloischen Vorläuferzellen, Megakaryoblasten und Megakaryozyten exprimiert [33]. Es konnte jedoch auch auf anderen Zellen wie Endothelzellen, fetalen Myokardiozyten und Zellen der Plazenta gefunden werden [15, 75]. Als zellulärer Korezeptor, welcher für die erfolgreiche Virusaufnahme in die Zelle erforderlich ist, wurde das $\alpha 5\beta 1$ -Integrin beschrieben [145].

Die Abbildung 1 zeigt eine Röntgenstrukturanalyse von PVB19. Auf Abbildung 2 ist eine elektronenmikroskopische Aufnahme von PVB19-Kapsiden dargestellt. Der lytische Replikationszyklus von PVB19 sowie die zeitliche Abfolge der Replikationsvorgänge wird von Abbildung 3 schematisch wiedergegeben.

Abbildung 1: Röntgenstrukturanalyse von PVB19, Tsao et al., 1991 [140].

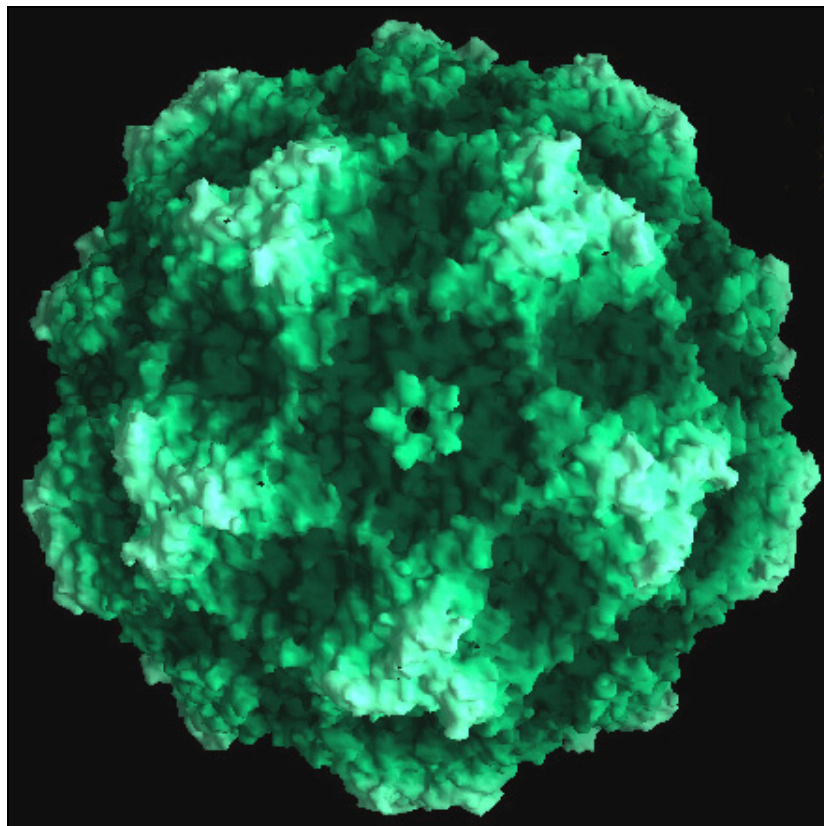


Abbildung 2: Elektronenmikroskopische Aufnahme von PVB19. [Abdruck mit freundlicher Genehmigung von Dr. C.T. Bock, Institut für Pathologie, Abteilung für Molekulare Pathologie, Universität Tübingen].

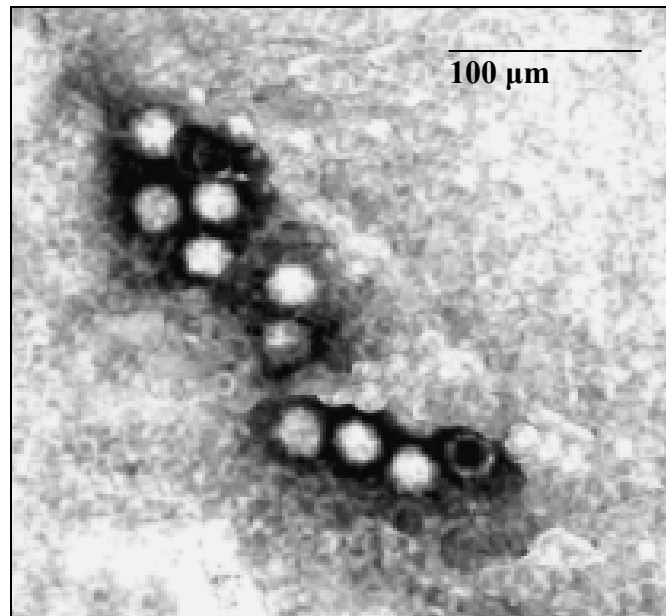
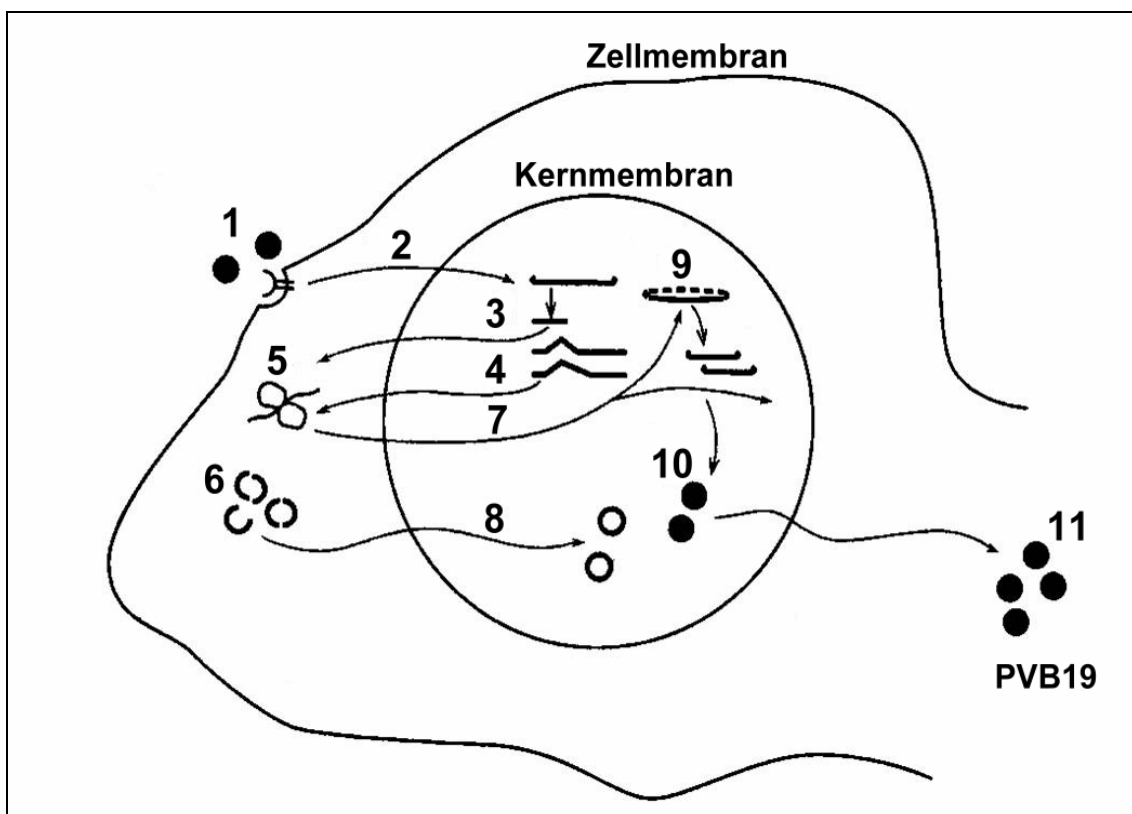


Abbildung 3: Lytischer Replikationszyklus von PVB19. Modifiziert nach Fields Virology [150].



- (1) **Rezeptor:** Blutgruppen-P-Antigen, Virusadsorption
Korezeptor: $\alpha 5\beta 1$ -Integrin, Internalisierung
Zielzellen: Erythroide Vorläuferzellen, fetale Leber-, Myokardzellen, Endothelzellen
- (2) Aufnahme in die Zelle und Translokation des viralen Genoms in den Nucleus
- (3) Frühe Transkription von NS1-RNA
- (4) Späte Transkription von VP1/2-RNA
- (5) Translation viraler Proteine
- (6) Zusammenfügen des Kapsids
- (7) NS1-Interaktion mit der DNA-Replikation
- (8) Translokation des Kapsids in den Nucleus
- (9) DNA-Replikation
- (10) Beladung des Kapsids mit DNA
- (11) Virusfreisetzung und Zellyse

1.1.2 Epidemiologie und Immunologie

In den USA und entsprechenden Klimazonen sind über 60% der erwachsenen Bevölkerung seropositiv für PVB19 [59, 75]. Die Infektion mit PVB19 erfolgt bereits im Alter zwischen 5 und 15 Jahren. Eine saisonale Häufung wird hierbei in den letzten Wintermonaten sowie den ersten Frühlingsmonaten beobachtet. Epidemien können in Intervallen von 4 bis 5 Jahren beobachtet werden [1].

Die Übertragung erfolgt durch Tröpfcheninfektion [31], Blutprodukte [10] sowie durch Knochenmarktransplantationen [57]. Eine Woche nach Inokulation des Virus kann eine systemische Infektion für etwa 6 Tage im Blut nachgewiesen werden. In dieser Zeit wird das Virus auch über die Atemwege, den Speichel und auch im Stuhl ausgeschieden. Mit dem Abfallen des Serumtiters des Virus erscheinen IgM-Antikörper. Spezifische IgG-Antikörper werden ab der 3. Woche nach Inokulation gebildet und erzeugen eine lebenslange Immunität [91, 112]. Bei der Mehrzahl der Patienten wird PVB19 nur wenige Wochen nach Infektion vollständig eliminiert. Bei ca. 20% der immun kompetenten Patienten kann das Virus allerdings Monate oder Jahre in Blut, Synovialgewebe

oder im Herz persistieren. Die Gründe hierfür sind bisher nicht ausreichend geklärt [25, 91, 98, 113].

1.1.3 Klinische Manifestationen

Zu Beginn der 80er Jahre konnte die ätiologische Verbindung zwischen dem Erythema infectiosum, dem Hydrops fetalis und der transienten aplastischen Anämie mit PVB19 hergestellt werden [3, 4, 13, 105, 111]. In den vergangenen Jahren wurde die Bedeutung von PVB19 im Rahmen vieler anderer Erkrankungsbilder untersucht [74, 91, 111, 151]. Zu nennen sind hier systemische und lokale Vaskulitiden [34, 42, 48, 139], Hepatitiden [42, 60, 68, 130, 138], Arthritiden [93, 131, 136], neurologische Störungen und Enzephalitiden [12, 138] sowie Myokarditiden [17, 87, 96, 99, 103, 110, 127]. Patienten mit primären oder sekundären Immunschwächen sind als Risikogruppen anzusehen, bei welchen die Infektion meist chronisch persistierend verläuft und zu einem besonders schweren und teilweise letalen Erkrankungsverlauf führen kann [50, 69, 74, 88, 105, 126]. Im Rahmen der Infektion treten hierbei vielfach Myokarditiden und Perikarditiden, akutes Herz- und Lungenversagen, Meningitiden und Enzephalitiden sowie akute Abstoßungsreaktionen nach Organtransplantation auf [91]. Die Mortalität bei Patienten nach Organtransplantation liegt bei etwa 7% [126]. Eine weitere Risikogruppe sind schwangere Frauen, bei denen die diaplazentare Übertragung von PVB19 auf den Fetus zu Aborten und dem Vollbild des nicht autoimmun bedingten Hydrops fetalis führen kann. [46].

1.1.3.1 Erythema infectiosum

Häufigstes klinisches Erscheinungsbild der PVB19-Infektion ist das Erythema infectiosum (Synonyme: Ringelröteln, fifth disease, slapped cheek disease). Es befällt typischerweise Kinder im Vorschulalter und kann klinisch in drei aufeinander folgende Stadien gegliedert werden [89, 91]. Etwa 2 Wochen nach Inokulation des Virus bildet sich, nach milden, häufig grippeähnlichen Prodromalsymptomen, im Bereich der Wangen ein symmetrisches, feurig rotes, meist juckendes Exanthem aus. Eine Verwechslung mit

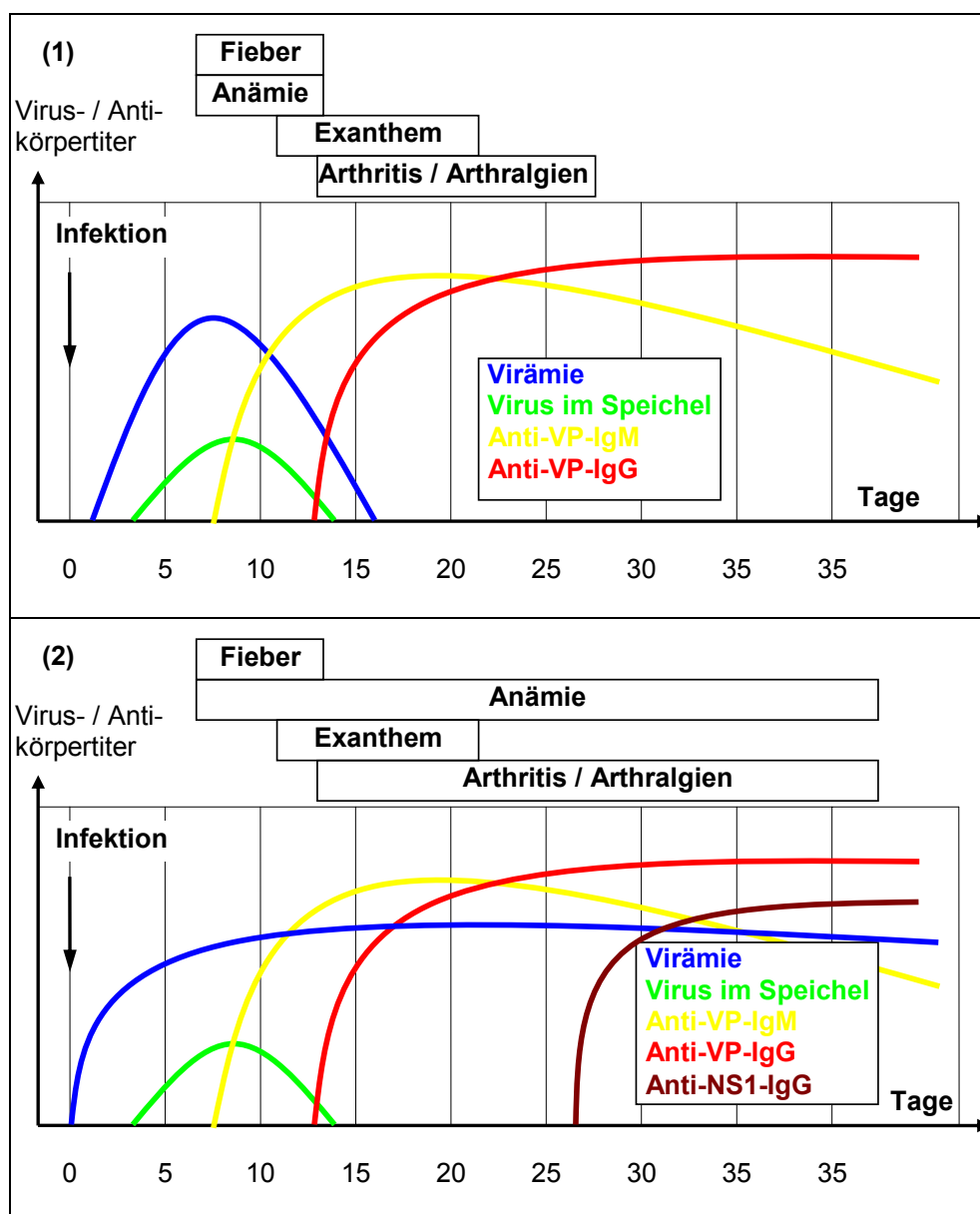
anderen exanthematösen Erkrankungen wie Scharlach, allergischen oder Überempfindlichkeitsreaktionen ist in diesem Stadium möglich. Im Rahmen des zweiten Stadiums tritt dann, etwa nach einem bis vier Tagen, ein makulopapuläres Exanthem an Rumpf und Extremitäten auf. Das dritte Stadium hat eine Dauer von einer bis drei Wochen. Das Exanthem wechselt in seiner Intensität und kann sogar ganz verschwinden und anschließend erneut auftreten. Als häufigste Komplikation tritt eine zumeist milde verlaufende, unspezifische Infektion der oberen Atemwege in der Phase der Virämie auf [4, 75]. Eine weitere Komplikation stellen die infektiöse Arthritis sowie Arthralgien dar, die regelmäßig beobachtet werden können [75, 91]. Bei Kindern sind diese Komplikationen relativ selten, werden jedoch im Erwachsenenalter bei bis zu 80% der weiblichen Patienten mit Exanthem beobachtet. Entwickelt sich eine persistierende Infektion, kann die Symptomatik über Monate, teilweise über Jahre andauern. Das Virus bleibt dann im Blut und den betroffenen Gelenken vorhanden [91]. Klinisch inapparente Verläufe sind jedoch mit bis zu 25% nicht selten [58].

1.1.3.2 Aplastische Anämie

Eine transiente aplastische Anämie kann als regelmäßig auftretendes Symptom der Infektion mit PVB19 beobachtet werden und tritt auch im Rahmen der klinisch inapparenten und unkomplizierten Fälle auf [30]. Binnen einer Woche post infectionem kommt es zur ausgeprägten Virämie, die zur Infektion der erythropoetischen Vorläuferzellen führt. Diese werden nahezu vollständig lysiert. Als Folge hiervon sind in der zweiten Woche post infectionem keine Retikulozyten mehr im Blut nachweisbar und es kommt zum Abfall des Hämoglobinspiegels. Nach 25-30 Tagen post infectionem erreichen die Hämoglobinspiegel wieder ihre Ausgangswerte [4, 150]. Zur akuten aplastischen Krise kann dieser Mechanismus bei Patienten mit vorbestehenden hämolytischen Anämien wie der Sichelzellenanämie, Erythrozytenmembrandefekten, Thalassämien aber auch bei Patienten mit myelodysplastischem Syndrom oder nach Knochenmarkstransplantation sowie bei Eisenmangelanämie und nach größeren Blutverlusten führen [30, 74, 91, 111, 150]. Auch transiente Thrombopenien und Granulopenien können beobachtet werden, welche sich, da in diesen Zellen keine lytische Replikation des Vi-

rus ablaufen kann, am ehesten durch einen zytotoxischen Effekt erklären lassen [112]. Bei persistierender Infektion können sich chronische Anämien entwickeln [30]. Die Abbildung 4 zeigt schematisch den typischen Verlauf der PVB19-Infektion mit dem zeitlichen Auftreten und der Dauer der häufigsten Komplikationen sowie den Verlauf der Antikörpertiter.

Abbildung 4: Typischer Verlauf der PVB19-Infektion. Nach Modrow, S., 2001 [91]. (1) akute Infektion, (2) persistierende Infektion.



1.1.3.3 Kardiale Manifestationen

Bisher veröffentlichte Untersuchungen weisen auf eine ätiologische Bedeutung der PVB19-Infektion im Rahmen akuter und chronischer Herzerkrankungen hin [11, 17, 18, 20, 28, 43, 45, 73, 77, 78, 79, 87, 95, 96, 99, 103, 107, 110, 123, 127, 141, 143].

Die meisten Patienten zeigen 5-20 Tage nach akuter PVB19-Infektion ein klinisches Bild, welches durch kardiale Symptome wie akutes Herzversagen, Arrhythmien und plötzlichen Herzstillstand gekennzeichnet sein kann [18]. Eine klinische Manifestation unter dem Bild eines akuten Myokardinfarktes wurde beschrieben [17, 19, 77].

1.2 HUMANES HERPESVIRUS 6 (HHV6)

1.2.1 Taxonomie und Biochemie

HHV6 wurde erstmals im Jahre 1986 aus Blutkulturen von Patienten mit AIDS und lymphoproliferativen Erkrankungen isoliert [124]. HHV6 gehört zu den Roseolaviren, die der Subgruppe der β -Herpesviren zugerechnet werden. Das Virus ist aus den für Herpesviren typischen Strukturen aufgebaut: einem ikosaederförmigen Kapsid mit einem Durchmesser von 90nm bis 110nm, bestehend aus 162 Kapsomeren, welches die DNA enthält, einer Hülle, die aus der zellulären Membran der Wirtszelle entsteht, und mit viralen Glykoproteinen bestückt ist und einem Tegument zwischen Hülle und Kapsid. Der Durchmesser des Virus beträgt ungefähr 200nm [22, 38]. HHV6 besitzt eine lineare Doppelstrang DNA mit einem Informationsgehalt von 160 kB bis 162 kB. Unterschieden werden die zwei Subgruppen HHV6-A und HHV6-B [53]. Unterschiede beider Subgruppen finden sich sowohl molekularbiologisch als auch im Zelltropismus [22].

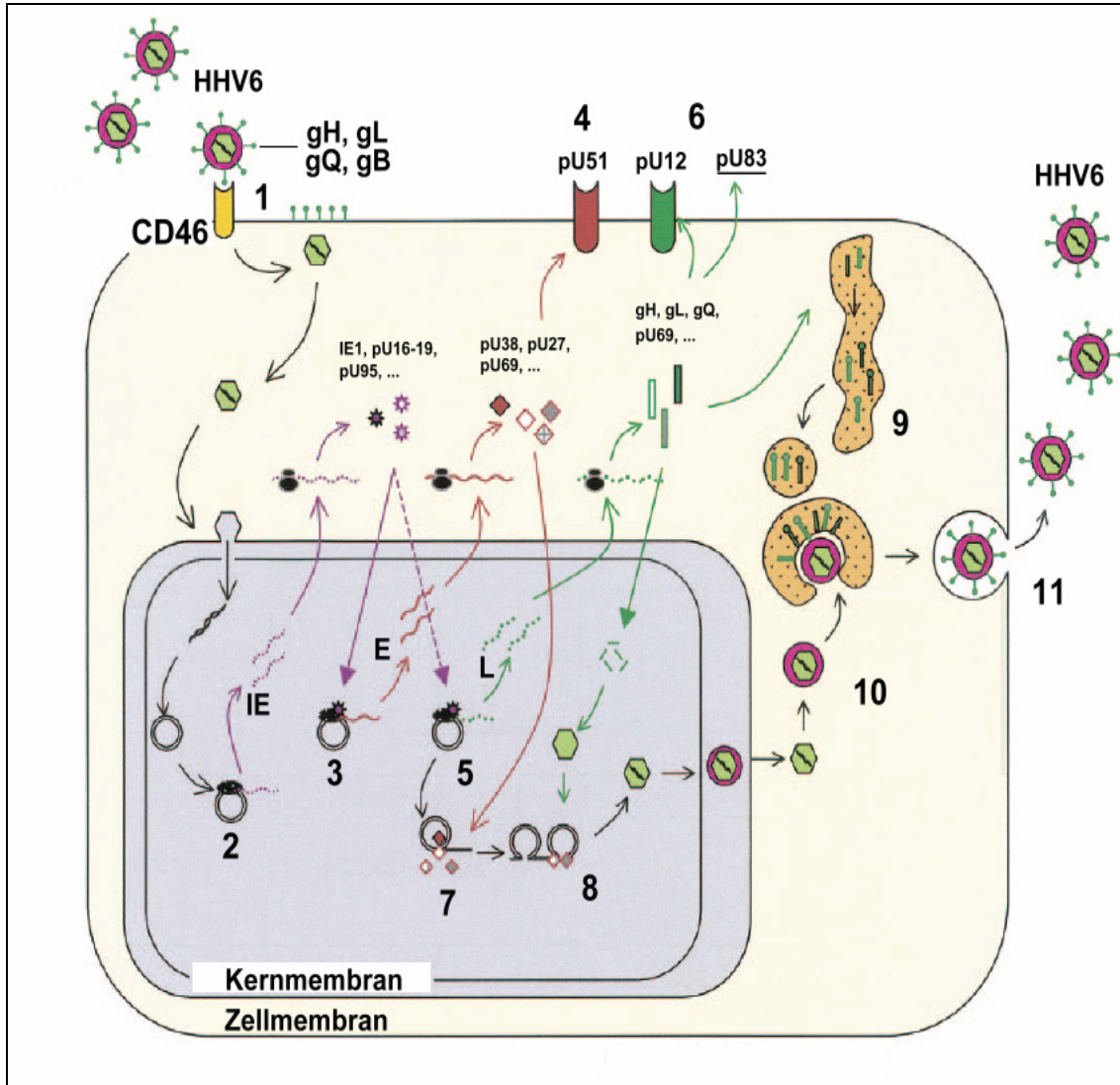
Als zellulärer Rezeptor wurde das Oberflächenantigen CD46 beschrieben, welches von allen kernhaltigen Zellen exprimiert wird [125]. HHV6 wurde ursprünglich als B-lymphotropes Virus beschrieben, kann sich jedoch in vitro am effektivsten in CD4⁺-T-Lymphozyten replizieren [124, 135]. Aufgrund des ubiquitären Vorkommens von CD46 kann HHV6 viele unterschiedliche Zelltypen in vitro und in vivo infizieren. Die Effizienz der lytischen Replikation scheint dennoch von bisher unbekanntem Faktoren abzu-

hängen [38]. HHV6-B hat eine höhere Affinität zu mononukleären Zellen, wie beispielsweise Makrophagen, T-Lymphozyten oder B-Lymphozyten [40]. Es konnte nachgewiesen werden, dass HHV6-A hingegen eine wesentlich höhere Affinität zu neuronalen Zellen wie Oligodendrozyten, Astrozyten und Neuronen besitzt [37]. Beide Varianten scheinen in vivo unterschiedliche ökologische Nischen zu besetzen und sind möglicherweise auch unterschiedlichen Spezies zuzurechnen [22].

Eine Besonderheit von HHV6 sowie anderer Vertreter der Herpesviren ist die Fähigkeit zur molekularen Interaktion mit dem Immunsystem des Wirts [38, 49]. Das für HHV6 spezifische Protein pU83, ein funktionelles Chemokin, ist als selektiver CCR2 (CC-Chemokin-Rezeptor 2) Agonist in der Lage, CCR2 exprimierende Zellen wie Monozyten und Makrophagen anzulocken, und nach deren Infektion eine Streuung des Virus im Wirtsorganismus zu induzieren [38, 82]. Die viralen Proteine pU12 und pU51, welche auch bei anderen β -Herpesviren gefunden werden, sind funktionelle β -Chemokin-Rezeptoren. Diese werden, abhängig vom Zelltyp, in die Zellmembran integriert und dienen vermutlich zur Rekrutierung zirkulierender Entzündungszellen um die Infektion zu forcieren [38]. Im weiteren nimmt HHV6 Einfluss auf die Interferon- und Interleukinausschüttung sowie die Expressierung der HLA-Moleküle⁵ auf dendritischen Zellen, um die Immunantwort des Wirts zu alterieren [38, 49]. Die Abbildung 5 zeigt schematisch den für HHV6 typischen, lytischen Replikationszyklus sowie die zeitliche Abfolge der Replikationsvorgänge. Die Abbildung 6 zeigt elektronenmikroskopische Aufnahmen des Virus.

⁵ Abkürzung für (engl.) human leucocyte antigen

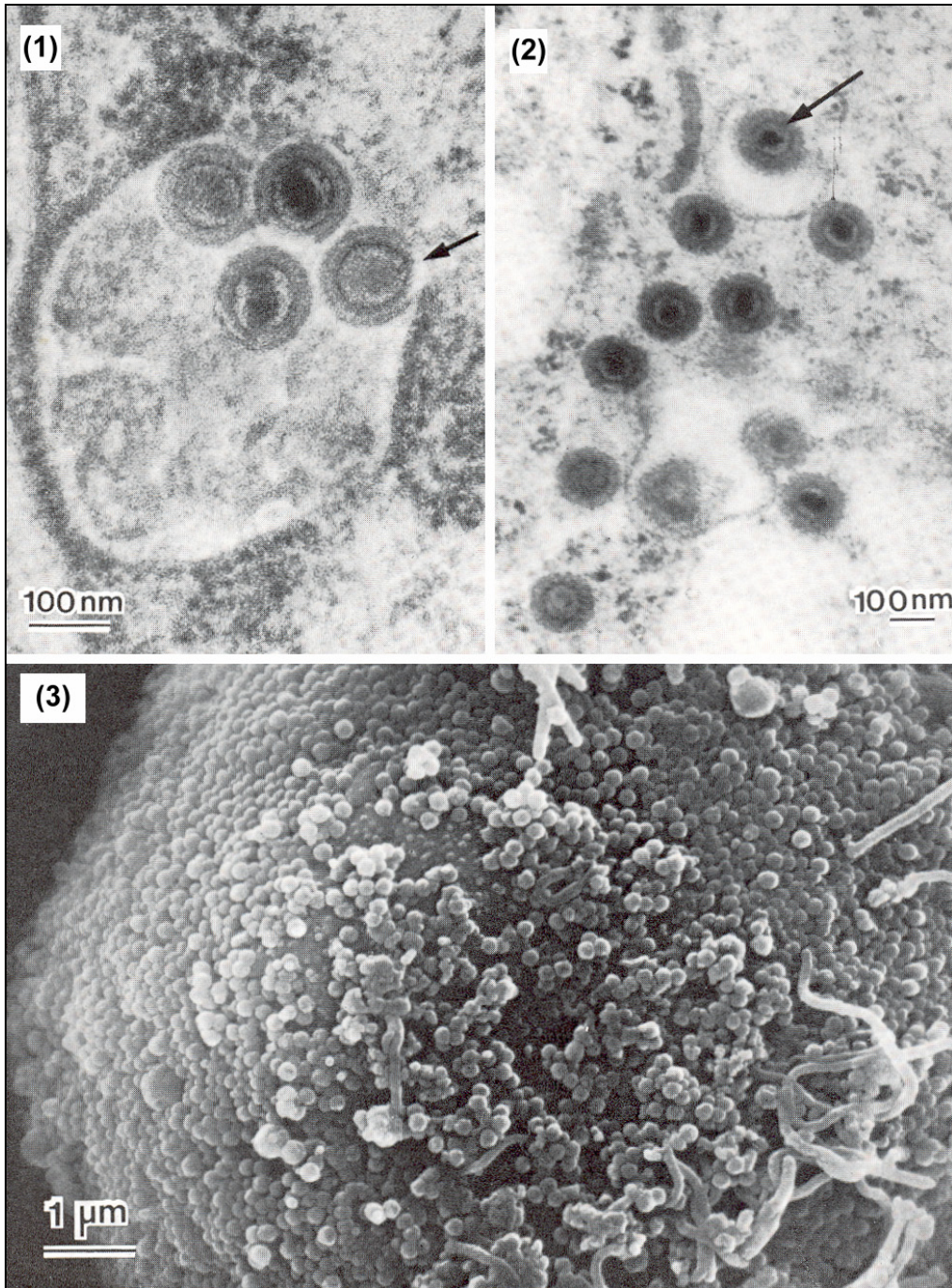
Abbildung 5: Lytischer Replikationszyklus von HHV6. Modifiziert nach De Bolle, L. et al. 2005 [38].



- (1) **Rezeptor:** CD46-Oberflächenantigen, **Virale Glykoproteine gH, gL, gQ, gB:** Beteiligt an Virusadsorption und Fusion mit der Zellmembran
- (2) Sehr frühe Transkription: IE (Immediate Early) Proteine zur Kontrolle der zeitlichen Abfolge der Replikationsprozesse
- (3) Frühe Transkription, E (Early)
- (4) pU51: funktioneller Chemokin-Rezeptor
- (5) Späte Transkription, L (Late)
- (6) pU12: funktioneller Chemokin-Rezeptor

- (7) pU83: für HHV6 spezifisches funktionelles Chemokin
- (8) DNA-Replikation
- (9) Beladung des Kapsids mit DNA und viralen Enzymen
- (10) Golgi-Apparat: Glykosilierung viraler Proteine und Freisetzung in Vesikeln
- (11) Tegumentaquisition und beladen mit viralen Glykoproteinen
- (12) Virusfreisetzung und Zellyse

Abbildung 6: Elektronenmikroskopische Aufnahmen von HHV6. (1) Vakuole im Nukleus eines infizierten Lymphozyten [Pfeil: HHV6]. (2) Zytoplasma eines Lymphozyten [Pfeil: HHV6] (3) Infizierter Lymphozyt mit einer Vielzahl von Viruspartikeln auf der Oberfläche. Zur Verfügung gestellt mit der freundlichen Genehmigung zum Abdruck von Prof. M. Yoshida, Institut für Virologie, Okayama Medical School, Okayama, Japan [148].



1.2.2 Epidemiologie und Immunologie

Untersuchungen an immunkompetenten Gesunden sowie an erkrankten Individuen ergaben eine Seroprävalenz von HHV6, die nahezu bei 100% in der Bevölkerung liegt [22, 32, 75, 80, 121, 132, 152].

Die Primärinfektion findet bereits innerhalb der ersten drei Lebensjahre statt [8, 38, 75, 152]. Der Großteil der Primärinfektionen tritt schon innerhalb des ersten Lebensjahres auf [8]. Das Neugeborene ist durch die diaplazentar übertragenen Antikörper der Mutter geschützt [102]. Mit dem Abfall des Serumtiters im Alter von etwa drei bis neun Monaten kann es zur Infektion mit HHV6 kommen [8, 24, 38, 152]. Da vereinzelt Primärinfektionen im Alter von weniger als 6 Monaten beobachtet werden können, sind neben dem Schutz durch die maternalen Antikörper möglicherweise noch andere Abwehrmechanismen beteiligt [133]. Auch die Möglichkeit einer diaplazentaren Infektion scheint gegeben zu sein [2].

Stabile Antikörpertiter werden nach der Erstinfektion bis zum Alter von etwa 60 Jahren beobachtet, danach kommt es wieder zu einem Abfall der Titer [80]. Im Anschluss an die Erstinfektion überdauert die Infektion latent in Monozyten und Makrophagen [76] und persistiert in den Speicheldrüsen [32, 80], dem lymphatischen Gewebe der Tonsillen [121] und im Gehirn [27]. Eine Persistenz in Endothelzellen wird seit kurzem vermutet [23, 120]. Es konnte gezeigt werden, dass HHV6-B, nicht jedoch HHV6-A, bei Gesunden und Erkrankten gleichermaßen über den Speichel ausgeschieden wird. Abhängig von der Sensitivität der Methode erwiesen sich bis über 85% der untersuchten Personen als Ausscheider [32, 38, 80]. Die Übertragung von HHV6 durch die Ausscheidung der in den Speicheldrüsen replizierten Viren gilt als epidemiologisch gesichert [38, 54]. Asymptomatische Reaktivierungen sowie asymptomatische Reinfektionen mit Virusmutanten konnten beobachtet werden [24, 54].

1.2.3 Klinische Manifestationen

Zwei Jahre nach dessen Entdeckung konnte HHV6-B als ursächlich für das Exanthema subitum (Synonyme: 3-Tage-Fieber, sixth disease, Roseola infantum) gefunden werden,

welches das klinische Bild der Primärinfektion bestimmt [147]. Eine ätiologische Verbindung von HHV6-A zu einer definierten Erkrankung konnte bisher nicht hergestellt werden [38]. Wie auch bei PVB19 wird eine pathogenetische Bedeutung von HHV6 in der Genese sehr unterschiedlicher Krankheitsbilder angenommen. Die intensive Erforschung von HHV6 als ein ursächliches Agens der Enzephalomyelitis Disseminata lieferte bisher widersprüchliche Daten [38]. Wenige Fallberichte schildern akute Myokarditiden, welche möglicherweise durch HHV6 verursacht wurden [52, 61, 114, 116, 118, 149].

Eine Risikogruppe bilden, wie auch bei der Infektion mit PVB19, Patienten mit primären oder sekundären Immunschwächen, bei welchen es zur Reaktivierung der latenten Infektion oder zur Reinfektion kommen kann [22, 38]. Patienten mit dem größten Risiko einer Infektion sind hierbei die Empfänger von Knochenmark-, Nieren- und Lebertransplantaten [22]. Im Zusammenhang mit der HHV6-Infektion post transplantationem wurden schwere Krankheitsbilder wie Enzephalitiden, Pneumonien sowie verzögerte Transplantateinheilung und akute Transplantatabstoßungen beschrieben. Auch die Primärinfektion des Empfängers aufgrund einer Reaktivierung der vorbestehenden Infektion des Spenderorgans unter Immunsuppression konnte beobachtet werden [38]. Reinfektion oder Reaktivierung sind beim immunkompetenten Erwachsenen hingegen selten [22, 38]. Bei der Untersuchung von Inzidenz und Bedeutung der HHV6-Infektion im Zusammenhang mit verschiedenen Neoplasien konnte bisher kein onkogenes Potenzial des Virus aufgezeigt werden [22, 38].

1.2.3.1 Exanthema subitum

Das Exanthema subitum stellt eine normalerweise milde verlaufende, selbstlimitierende Infektion dar, welche klinisch durch hohes Fieber ($\geq 40^{\circ}\text{C}$), Diarrhoen, erythematöse Papeln im Rachen, Lidödeme, Otitis, Husten und eine leichte Schwellung der zervikalen Lymphknoten gekennzeichnet sein kann. Ein Exanthem an Rumpf, Gesicht und Nacken tritt zumeist nach Abklingen des Fiebers für die Dauer von bis zu vier Tagen auf [8, 55, 152]. Es wird jedoch in weniger als einem Drittel der Fälle beobachtet [55, 152]. Auch klinisch asymptomatische Verläufe sind mit etwa 20% nicht selten [75, 152]. Kompl-

zierte und letale Verläufe sind selten [38]. Häufigste Komplikationen der HHV6-Infektion sind Fieberkrämpfe, welche jedoch infrequent auftreten [8, 152]. Weiterhin wurden selten Enzephalitiden und epileptische Anfälle, fulminante Hepatitiden, Hepatosplenomegalie, das hämophagozytisches Syndrom und disseminierte Infektionen beobachtet [38]. Eine vorübergehende Thrombozytopenie, der eine Depression des Knochenmarks zugrunde liegt, wird häufiger beobachtet [56]. Eine sehr selten erst im Erwachsenenalter auftretende Primärinfektion unterscheidet sich von der des Kindesalters und kann unter einem mononukleoseähnlichen Bild verlaufen [38].

1.2.3.2 Kardiale Manifestationen

Eine kardiale Beteiligung im Rahmen der HHV6-Infektion ist in der Literatur nur in wenigen Kasuistiken beschrieben [52, 61, 114, 116, 118, 149]. Allen Fällen gemeinsam ist ein fulminanter Krankheitsverlauf, welcher häufig zum Tod des Patienten führte. Die autoptischen Untersuchungen zeigten hierbei disseminierte Infektionsmuster, welche mehrere Organe wie Lunge, Leber oder Gehirn betrafen.

1.3 ZIELE DER VORLIEGENDEN ARBEIT

Einige der bisher durchgeführten Untersuchungen fanden nur einen geringen Zusammenhang zwischen dem Nachweis von PVB19-DNA im Myokard und dem histopathologischen Bild der Myokarditis [14, 127], andere zeigten einen hohen Anteil an PVB19-Infektionen in Endomyokardbiopsien von Patienten mit inflammatorischen Kardiomyopathien auf [107, 108]. Versuche, eine pathogenetische und prognostische Bedeutung des PVB19-Nachweises im Myokard im Zusammenhang mit der klinischen Symptomatik aufzuzeigen führten zu widersprüchlichen Ergebnissen [107, 108]. HHV6 konnte in bisherigen Untersuchungen in bis zu 26% der untersuchten Endomyokardbiopsien nachgewiesen werden [141]. Die pathogenetische Bedeutung von HHV6 in der Genese der entzündlichen Kardiomyopathie wie auch anderer Erkrankungen scheint jedoch noch völlig offen [38, 78, 141]. Kritik an den aufgestellten Hypothesen begründet sich darauf, dass zur Validierung der Studienergebnisse bisher keine systematischen Studien mit Kontrollkollektiven veröffentlicht wurden [151].

Ziel der vorliegenden Studie war es deshalb, an einem großen Patientenkollektiv sowie einer Kontrollgruppe die folgenden Fragestellungen zu überprüfen:

- Prävalenz von PVB19 und HHV6 in Endomyokardbiopsien im Rahmen der Routinediagnostik.
- Zuordnung von molekularbiologischen Untersuchungsergebnissen zu morphologischen und immunhistologischen Befunden. Vergleich mit der Kontrollgruppe.
- Zusammenhang zwischen Erregernachweis und klinischer Diagnose sowie klinisch ermittelten Parametern der Patienten des untersuchten Patientenkollektivs.

Zur Klärung dieser Fragestellungen erscheint eine Diagnostik an Endomyokardbiopsien unter Einsatz von histologischen, immunhistochemischen und molekularbiologischen Methoden (Tripeldiagnostik), wie sie in dieser Studie zur Anwendung kommen, als optimal [18, 107].

2 Material und Methodik

Als Ausgangsmaterial für die Studie dienten 2597 Endomyokardbiopsien von 2466 Patienten, die im Rahmen der Routinediagnostik in den Jahren 1997 bis 2002 am Institut für Pathologie der Universität Tübingen in den Abteilungen Allgemeine Pathologie und Molekulare Pathologie untersucht wurden. Als Kontrollgruppe wurde autoptisch gewonnenes Myokardgewebe von 34 Personen verwendet, welche im Rahmen von Unfällen, Gewaltverbrechen oder durch Suizid zu Tode kamen und vom Institut für Rechtsmedizin der Universität Tübingen zur Verfügung gestellt wurden. Zeitgleich mit den Endomyokardbiopsien wurden bei 872 Patienten Blutproben entnommen die ebenfalls untersucht wurden. Eingesendet wurden die Endomyokardbiopsien von 29 kardiologischen Zentren aus Deutschland, Österreich und der Schweiz.

2.1 BIOPTISCHES MATERIAL

Die Endomyokardbiopsien (Median 4,0, 1-6 pro Patient) wurden entweder formalinfixiert in 5% Formalin (0,15 molarer Phosphatpuffer) und eingebettet in Paraffin oder fixiert in 70% Ethanol oder RNA later^{®6} eingeschickt. Das autoptisch gewonnene Myokardgewebe aus dem Institut für Rechtsmedizin wurde bereits formalinfixiert und in Paraffin eingebettet zur Verfügung gestellt. Es erfolgte die weitere Aufarbeitung für lichtmikroskopische Standardfärbungen und immunhistochemische Färbungen, elektronenmikroskopische Untersuchungen und molekularbiologische Untersuchungen.

⁶ Fa. Ambion Inc., Austin, Texas, USA

2.2 KONVENTIONELLE FÄRBUNGEN

Zur konventionellen histomorphologischen Diagnostik wurden verschiedene Färbemethoden entsprechend der Tabelle 1 an den Gewebeschnitten durchgeführt.

Tabelle 1: Konventionelle histologische Färbungen.

Färbung [Quelle]	Ergebnis der Färbung
Berliner-Blau [119]	ionisiertes Eisen intensiv blau Zellkerne rot Zytoplasma rot
PAS (periodic acid Schiff's reaction) [119]	kohlehydrathaltige Makromoleküle rötlich bis purpur
Giemsa nach Gaffney [115]	Zellkerne blau Zytoplasma rosa Mastzellgranula violett
Hämalaun-Eosin (HE) nach Mayer [119]	Zellkerne blau Zytoplasma blassrot Muskelgewebe rot
Kongo-Rot nach Puchtler [119]	Zellkerne blauviolett Amyloid im Hellfeld rosa bis rot, in polarisiertem Licht grüne Doppelbrechung Bindegewebe hellrot
Luxol-fast-blue [7]	myofibrilläre Degeneration stellen sich als intensiv blaue Querbänder dar Zellen mit einer Koagulationsnekrose nehmen einen fahlen, graublauen Farbton an
Masson's Trichrom [119]	Zellkerne schwarz Zytoplasma, Keratin und Muskulatur rot Kollagenfasern und Muzine blau

2.2.1 Berliner-Blau-Färbung

Die Berliner-Blau-Färbung wird bei entsprechender Fragestellung wie z.B. einer Eisenspeichererkrankung durchgeführt. Bei der Reaktion wird ionisiertes Eisen (Fe^{3+}), welches in sekundären Lysosomen lokalisiert und an Glykoproteine gebunden ist, nachgewiesen.

2.2.2 PAS-Färbung

Die PAS-Färbung dient zum Nachweis von kohlehydrathaltigen Makromolekülen wie Glykogen und Glykoproteinen. PAS-positive Substanzen sind unter anderem Muzin, Basalmembranen und Amyloid. Durch Perjodsäure werden freie Hydroxylgruppen benachbarter Kohlenstoffatome zu Aldehydgruppen oxidiert. Gleichzeitig wird die 2,3-Bindung zwischen den Kohlenstoffatomen gespalten. Die entstehenden Aldehydgruppen reagieren mit dem Schiff-Reagenz und ergeben ein stabiles, rotes Reaktionsprodukt.

2.2.3 Giemsa-Färbung nach Gaffney

Die Giemsa-Färbung besteht aus einer Mischung aus Azur A-Eosinat, Azur B-Eosinat, Methylenblau-Eosinat und Methylenblauchlorid in Methylalkohol mit Glycerin als Stabilisator. Das Färberesultat kann deutliche Unterschiede aufweisen. Es wird unter anderem durch den pH-Wert der Lösung und der Pufferlösung, die Puffersubstanzen, die Färbezeit und die Art der Fixierung beeinflusst. Zellkerne erscheinen durch Komplexbildung der Farbstoffe mit der DNA purpurrot. Das Zytoplasma stellt sich meist bläulich dar.

2.2.4 Hämalaun-Eosin-Färbung nach Mayer

Die HE-Färbung ist die gebräuchlichste Übersichtsfärbung. Hämalaun ist ein bei niedrigem pH positiv geladener Farbstoff und färbt basophile Strukturen wie DNA, RNA oder

saure Glykosaminoglykane blau. Eosin ist ein negativ geladener Farbstoff und dient zur Gegenfärbung. Er färbt alle übrigen Strukturen in verschiedenen Rot-Tönen.

2.2.5 Kongo-Rot-Färbung nach Puchtler

Die Kongo-Rot-Färbung dient zum histomorphologischen Nachweis von Amyloid und funktioniert auf der Grundlage der Bildung von Wasserstoffbrücken an die Carbohydratkomponente des Substrats. Im Polarisationslicht zeigt sich bei positivem Nachweis eine für Amyloid spezifische, grüne Dichromasie auf dunklem Hintergrund.

2.2.6 Luxol-fast-blue-Färbung

Mit der modifizierten Luxol-fast-blue-Färbung kann eine myofibrilläre Degeneration (Kontraktionsbandnekrose) in Form intensiv blauer Querbänder oder einer diffusen intensiv blauen Zytoplasma-Anfärbung dargestellt werden. Zellen mit einer Koagulationsnekrose nehmen einen fahlen, graublauen Farbton an. Die Färbung ermöglicht nicht nur die Erkennung disseminierter myofibrillärer Degeneration sondern auch von kurzfristigen oder territorialen Ischämien im Myokard.

2.2.7 Masson's Trichrom-Färbung

Bei allen Endomyokardbiopsien wurden zur quantitativen Bestimmung des Ausmaßes der Anteile des interstitiellen Bindegewebes im Myokard, sowie zur qualitativen lichtmikroskopischen Beurteilung, insbesondere der nekrobiotischen Areale, Masson-Trichrom-Färbungen durchgeführt. Die Masson-Trichrom-Färbung färbt durch verschiedene Lösungen wie Bouin's Flüssigkeit, Weigert's Eisen-Hämatoxylin, Biebrich-Fuchsin-Rot, Phosphomolybdän-Phosphat-Lösung und Anilin-Blau.

2.3 IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNGEN

Die Detektion und Differenzierung des zellulären Infiltrates in den untersuchten Endomyokardbiopsien für die anschließende Quantifizierung erfolgte mittels immunhistochemischer Färbungen, bei welchen verschiedene Mausantikörper nach Vorbehandlung des Gewebes mit proteolytischen Enzymen, wie Trypsin oder Pronase, sowie der weiteren Behandlung basierend auf der Avidin-Biotin-Methode und Verdünnungen nach Herstellerangaben zur Verwendung kommen. Die Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die verwendeten Antikörper.

Tabelle 2: Immunhistochemische Färbungen.

Antikörper (Klon) [Hersteller]	Zielzellen	Epitope
Anti-CD3 ¹⁾ (Klon PS1) [Fa. Novocastra, U.K.]	T-Lymphozyten	Epsilon-Kette des CD3- Oberflächenrezeptors
Anti-CD20cy (L26) [Fa. DAKO, Denmark]	B-Lymphozyten	CD20-Oberflächenantigen
Anti-CD68 (PG-M1) [Fa. DAKO, Denmark]	Makrophagen	zytoplasmatisches CD68- Antigen
Anti-Mastzellentryptase (Klon AA1) [Fa. DAKO, Denmark]	Mastzellen	zytoplasmatische Mastzel- lentryptase
Anti-CD34 (Klon QBEnd/10) [Fa. DAKO, Denmark]	aktivierte Endothelzellen	CD34-Oberflächenantigen
Anti-human-smooth- muscle-actin (Klon 1A4) [Fa. DAKO, Denmark]	glatte Muskelzellen, Myo- fibroblasten, myoepitheliale Zellen	zytoplasmatische Aktinfilamente
Anti-human-HLA-DR ²⁾ (Klon TAL.1B5) [Fa. DAKO, Denmark]	B-Zellen, aktivierte T- Zellen, Makrophagen, anti- genpräsentierende Zellen, einige endotheliale und epitheliale Gewebe	Alpha-Kette des HLA- Klasse-II-DR-Antigen

¹⁾ CD: Abkürzung für (engl.) cluster of differentiation bzw. cluster determination. Internationales System für die Bezeichnung von Differenzierungsantigenen auf der Zelloberfläche von Leukozyten.

²⁾ HLA: Abkürzung für (engl.) human leukocyte antigen

2.3.1 T-Lymphozyten

Die Darstellung der T-Lymphozyten erfolgte mit dem monoklonalen IgG1-Mausantikörper Anti-CD3. Das CD3-Molekül besteht aus fünf Ketten und hat ein Molekulargewicht von 1628 kDa. Anti-CD3 erkennt und bindet an die Epsilon-Kette.

2.3.2 B-Lymphozyten

Die Darstellung der B-Lymphozyten erfolgte mit dem monoklonalen IgG1-Mausantikörper Anti-CD20cy. Dieser bindet an ein intrazytoplasmatisches Epitop, einem Polypeptid mit einem Molekulargewicht von 30 kDa, welches am CD20-Rezeptor lokalisiert ist.

2.3.3 Makrophagen

Mit dem monoklonalen IgG1-Mausantikörperklon PG-M1 wurde das intrazytoplasmatische Antigen CD68 in den Lysosomen-Granula der Makrophagen dargestellt.

2.3.4 Mastzellen

Für die Darstellung der Mastzellen im untersuchten Gewebe wurde der monoklonale IgG1-Maus-Mastzellentryptase-Antikörper verwendet. Der Mastzellentryptase-Antikörper bindet spezifisch an die in den Mastzell-Granula enthaltene Protease mit einem Molekulargewicht von 132 kDa.

2.3.5 Aktivierte Endothelzellen

Die Anfärbung der Endothelzellen erfolgte mit dem monoklonalen IgG1-Mausantikörper Anti-CD34. Dieser erkennt und bindet an das aus einer Kette bestehende, transmembrane Glykoprotein CD34, welches ein Molekulargewicht von 110 kDa besitzt.

2.3.6 Glatte Muskelzellen

Zytoplasmatische Aktine gehören zu den Mikrofilamenten des Zytoskeletts. Das Aktin-Protein besteht aus 6 Isoformen mit einem Molekulargewicht von jeweils 42 kDa, welche sich hauptsächlich in ihrem N-terminalen Ende unterscheiden. Es gibt verschiedene α -Isoformen die spezifisch für Skelettmuskulatur, Myokard und glatte Muskulatur sind. Der monoklonale IgG-Antikörper Anti-SM-Aktin reagiert spezifisch mit der α -Isoform der glatten Muskulatur.

2.3.7 HLA-Klasse-II-DR

HLA-Antigene spielen eine wichtige Rolle in der Immunabwehr bei der Erkennung von Fremdgewebe. Beim Menschen sind die Klassen I-III bekannt. Die Klasse II Moleküle sind transmembrane heterodimere Proteine, welche aus einer schweren Alpha-Kette (30-34 kDa) und einer leichten Beta-Kette (26-29 kDa) bestehen. 6 Alpha- und 10 Beta-Ketten werden von 3 Genfamilien codiert (DQ, DP, DR), was die Formation verschiedener Varianten in jeder Familie ermöglicht. Der monoklonale Mausantikörper bindet an die Alpha-Kette des HLA-II-DR-Antigens. Das Epitop ist intrazellulär am C-terminalen Ende der DR-Alpha-Kette lokalisiert. Der Antikörper reagiert mit B-Lymphozyten, aktivierten T-Lymphozyten, Makrophagen, Antigen präsentierenden Zellen sowie einigen endothelialen und epithelialen Geweben.

2.4 HISTOLOGISCHE DIAGNOSESTELLUNG

Die histologische Diagnosestellung erfolgte entsprechend der durch die WHO/ISFC⁷ 1995 und 1997 festgelegten Klassifikation [83, 117] einschließlich der 1993 definierten Kriterien der Dallas-Klassifikation [6] für die Myokarditis.

⁷ Abkürzung für (engl.) World Health Organization / International Society and Federation of Cardiology

Entsprechend der WHO/ISFC-Klassifikation wurden folgende Kardiomyopathien unterschieden:

- Dilatative Kardiomyopathie (DCM)
- Hypertrophische Kardiomyopathie mit und ohne Obstruktion (HCM oder HOCM)
- Restriktive Kardiomyopathie (RCM)
- Arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie (ARVCM)
- Nichtklassifizierbare Kardiomyopathien (NKCM)

z.B. Fibroelastose, minimal dilatierte Kardiomyopathie, mitochondriale Kardiomyopathie, Karzinoidherz, atriale und arrhythmogene Formen.

- Spezifische Kardiomyopathien

z.B. inflammatorische Kardiomyopathie, ischämische Kardiomyopathie, valvuläre Kardiomyopathie, hypertensive Kardiomyopathie, metabolische Kardiomyopathie, Systemerkrankungen, muskuläre Dystrophien, neuromuskuläre Erkrankungen, immunologische und toxische Schädigungen und die peripartale Kardiomyopathie.

Entsprechend den Kriterien der Dallas-Klassifikation wurden Erstbiopsien und Kontrollbiopsien bei einem Patienten unterschieden. Bei der Erstbiopsie wurde unterschieden in:

- aktive Myokarditis („active myocarditis“)

- grenzwertiger Myokardbefund („borderline myocarditis“)
- keine Myokarditis („no myocarditis“)

Bei der Kontrollbiopsie wurde unterschieden in:

- fortschreitende Myokarditis („ongoing myocarditis“)
- abheilende Myokarditis („resolving myocarditis“)
- abgeheilte Myokarditis („resolved myocarditis“), DCM

Die interstitielle Entzündungsreaktion im Myokard wurde semiquantitativ anhand der Anzahl der infiltrierenden Leukozyten (CD3-positive T-Lymphozyten und CD68-positive Makrophagen) festgestellt. Hierbei wurden als Grenze zur Norm 14 Makrophagen/mm² definiert. Ein Auftreten von mehr als 14 infiltrierenden Leukozyten/mm² war für die morphologische Diagnosestellung einer Myokarditis erforderlich [21, 77].

2.5 MOLEKULARBIOLOGISCHE UNTERSUCHUNG

2.5.1 Allgemeines

Die molekularbiologische Untersuchung der Endomyokardbiopsien und der EDTA⁸-Blutproben erfolgte mittels der Polymerasekettenreaktion (PCR) entsprechend der bereits publizierten Methodik.⁹ Um Kreuzkontaminationen zu vermeiden, für welche die PCR-Methode anfällig ist, wurden alle Analysen doppelt und von verblindeten Medizinisch Technischen Assistenten durchgeführt [17, 77]. Die Spezifität der PCR-Produkte wurde durch automatische DNA-Sequenzierung überprüft [128]. Der Median der Ho-

⁸ Abkürzung für (engl.) ethylene diamine tetraacetic acid (Äthylendiamintetraessigsäure)

⁹ Vgl. Abb. 7 und 8

mologie mit dem publizierten Referenzstamm¹⁰ von PVB19 betrug 97% (92%-100%). Alle nachgewiesenen HHV6-Genome konnten als HHV6-B identifiziert werden.

Die Qualitätssicherung in den Labors erfolgte entsprechend der Leitlinie Diagnostische Molekulare Pathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie [62].

2.5.2 Polymerasekettenreaktion

Die Polymerasekettenreaktion ist eine *in vitro* Methode zur Amplifikation von DNA, die auf der enzymatischen Synthese von DNA-Sequenzen mittels DNA-Polymerase beruht [122]. Die PCR-Methode beruht auf der zyklischen Wiederholung von thermischer Denaturierung, Primerhybridisierung (Annealing) und DNA-Synthese (Elongation). Spezifische Oligonukleotide (Primer) flankieren den zu vermehrenden DNA-Abschnitt von den 3'-Strangenden her und dienen als Initiationsstelle für den Polymerisationsprozess der thermostabilen DNA-Polymerase. Nach Verdoppelung der Einzelstränge wird die DNA erneut denaturiert und der Zyklus beginnt von neuem.

Die Methode der nested PCR¹¹ dient zum Nachweis von Krankheitserregern, die nur in sehr geringer Kopienzahl vorliegen. In einer ersten PCR-Runde wird das Material amplifiziert. Dies reicht jedoch für eine Darstellung im Agarosegel meist nicht aus.

Deshalb wird mit einem zweiten Primerpaar, welches innerhalb des bereits amplifizierten Segmentes liegt, eine zweite PCR-Runde durchgeführt. Hierdurch wird zum einen die Spezifität erhöht und zum andern wird durch diese zweite PCR-Amplifikation die Nachweisgrenze der viralen Genome um ein Vielfaches gesenkt. Abschließend erfolgt die Darstellung der PCR-Amplifikate im Agarosegel. In den Abbildungen 7 und 8 sind die PCR-Protokolle für PVB19 und HHV6 dargestellt.

¹⁰ Vgl. Abb. 7

¹¹ Im Folgenden n. PCR abgekürzt

2.6 EDTA-BLUT

Bei 872 Patienten wurden zeitgleich mit der Endomyokardbiopsie EDTA-Blutproben entnommen. Diese dienten dem Nachweis oder Ausschluss einer systemischen Infektionen. Nach Trennung der Blutprobe in Buffy-Coat und Serum und anschließender DNA-Extraktion erfolgte die getrennte Untersuchung der beiden Kompartimente mittels der PCR-Methode entsprechend dem Vorgehen beim bioptischen Material.

2.7 KLINISCHE DATEN

Entsprechend dem Dokumentationsbogen wurden die Kliniker aufgefordert, definierte klinische Daten der Patienten, welche zum Zeitpunkt der Biopsie erhoben wurden, mitzuteilen. Bisherige Studien lassen vermuten, dass eine kardiale Infektion mit PVB19 einen Einfluss auf klinisch messbare Funktionsparameter des Patienten haben könnte [108, 141]. Deshalb wurden in diese Studie folgende Daten eingebracht und analysiert:

- klinische Diagnose
- Erkrankungsdauer
- Grad der Herzinsuffizienz nach NYHA
- Ejektionsfraktion

2.7.1 Klinische Diagnose

Die einsendenden Kliniker hatten die Möglichkeit, bis zu zwei gleichwertige klinische Differenzialdiagnosen anzugeben. Diese bildeten die Grundlage der Indikationsstellung zur Biopsieentnahme. Im Hinblick auf die Fragestellungen, welche in dieser Studie beantwortet werden sollten, wurde der klinischen Diagnose einer inflammatorischen Kardiomyopathie besondere Bedeutung zugemessen. Bei der Analyse der Daten wurde

überprüft, bei welchen Patienten das klinische Bild einer inflammatorischen Kardiomyopathie festgestellt wurde und ob der molekularpathologische Nachweis viraler Genome einen Einfluss auf diese Diagnose hatte.

2.7.2 Klinische Parameter

2.7.2.1 Erkrankungsdauer

Die Erkrankungsdauer wurde in Monaten der vor Biopsie bestehenden Krankheitssymptomatik angegeben. Ab einer Erkrankungsdauer von 15 Tagen wurde auf den vollen Monat gerundet.

2.7.2.2 Ejektionsfraktion

Die Ejektionsfraktion (EF) entspricht der Auswurfleistung des linken Ventrikels und ist definiert als das Verhältnis zwischen Schlagvolumen und dem enddiastolischen Volumen des linken Ventrikels. Ein Normalwert entspricht nach gängiger Lehrmeinung einer EF von $\geq 65\%$. Ein Wert von weniger als 45% entspricht einer deutlich reduzierten Auswurfleistung. Die Messung kann mit Röntgenkontrastmitteln oder mittels der Echokardiographie erfolgen.

2.7.2.3 Grad der Herzinsuffizienz nach NYHA

Zur Einteilung und Risikoabschätzung der Herzinsuffizienz hat die New York Heart Association (NYHA) einen nun international angewandten Index vorgeschlagen. Entsprechend der klinischen Symptomatik in Abhängigkeit von der körperlichen Belastung werden vier Schweregrade unterschieden. Die Tabelle 3 stellt die Einteilung der NYHA-Klassifikation, sowie die zugehörige klinische Symptomatik und objektive Untersuchungsbefunde dar.

Tabelle 3: NYHA-Klassifikation.

Schweregrad	Klinik	Befunde
I°	Herzerkrankung ohne körperliche Einschränkung im Alltag	Keine objektiven Hinweise für eine Herz-Kreislauf-erkrankung
II°	Herzerkrankung mit leichter Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Keine Ruhebeschwerden	Objektive Hinweise auf eine geringe Herz-Kreislauf-erkrankung
III°	Herzerkrankung mit höhergradiger Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Keine Ruhebeschwerden	Objektive Hinweise auf eine mäßig- bis hochgradige Herz-Kreislauf-erkrankung
IV°	Herzerkrankung bei allen körperlichen Aktivitäten. Beschwerden schon in Ruhe	Objektive Hinweise auf eine schwere Herz-Kreislauf-erkrankung

2.8 DATENERFASSUNG

Klinische Daten der Patienten wurden bereits von den einsendenden Kliniken auf einem dafür vorgesehenen Dokumentationsbogen (Abbildung 9 und 10) festgehalten und mit den biotischen Proben übersandt. Die bereits klinisch erfassten Daten und die erhobenen Befunde wurden auf einem gesonderten Formular (Abbildung 11 und 12) zusammengeführt, verschlüsselt und als Datenbank elektronisch erfasst. Der Dokumentationsbogen sowie das Formular zur Datenerfassung verblieben anschließend in der Patientenakte.

Abbildung 9: Klinischer Dokumentationsbogen. Seite 1.

Endomyokardbiopsien

Dokumentationsbogen Klinik und Entnahmeort

Patientendaten	
Name, Vorname	
Geburtsdatum:	Geschlecht: <input type="checkbox"/> m <input type="checkbox"/> w
Einsendende Klinik:	
Stempel:	
Ansprechpartner (Arzt):	
Tel:	

Datum/Unterschrift
einsendender Arzt

Klinische Diagnose:

<input type="checkbox"/> V. a. Myokarditis <input type="checkbox"/> V. a. dilatative Kardiomyopathie <input type="checkbox"/> V.a. hypertrophe Kardiomyopathie <input type="checkbox"/> V.a. Speicherkrankheit <input type="checkbox"/> V.a. Transplantatabstoßung <input type="checkbox"/> V. a. Alkoholabusus <input type="checkbox"/> V. a. KHK <input type="checkbox"/> Infarkt <input type="checkbox"/> V.a. Sonstiges	<input type="checkbox"/> akut <input type="checkbox"/> chronisch <input type="checkbox"/> beginnend <input type="checkbox"/> Vollbild <input type="checkbox"/> obstruktiv <input type="checkbox"/> nicht obstruktiv Art: _____ Lokalisation: _____ Art: _____
--	--

Anamnese:

Beginn kardiale Erkrankung

Infektanamnese:

Familienanamnese:

Begleiterkrankungen:

Abbildung 10: Klinischer Dokumentationsbogen. Seite 2.

Therapie:

symptomatisch, mit : _____

immunsuppressiv. _____

Interferon Dosierung: _____ Zeitraum: _____

Beschwerden:

Herzinsuffizienz: NYHA: _____

Arrythmie: nein ja Art: _____

Pericarderguß nein ja Größe: _____ ml

Echokardiographie:

enddiastolischer Durchmesser: _____

Bestehen regionale Hypokinesien nein ja Ort: _____

Katheteruntersuchung:

Auswurfraction (LVEF): _____ %

Linksventrikulärer enddiastolischer Druck (LVEDP): _____

Pulmonalarterieller Mitteldruck (Ruhe): _____

Pulmonalarterieller Mitteldruck (Belastung): _____

Coronare Herzerkrankung: nein ja Art: _____

Endomyokardbiopsie:

Erstbiopsie Verlaufsbiopsie

Biopsieentnahmestelle: LV RV Anzahl der Biopsien: _____

Entnahmeorte:

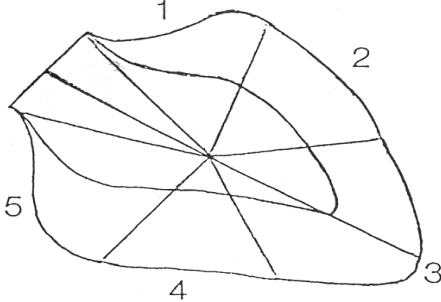


Abbildung 12: Datenerfassungsblatt Endomyokardbiopsien. Seite 2.
 [Erstellt in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. B. Bültmann und Prof. Dr. R. Kandolf am Institut für Pathologie, Universität Tübingen].

Färbungen - Immunhistochemie - EIMi			
Methode	Nein=0	Ja=1	Keine Angabe=2
HE			
MTRI			
Giemsa			
KONGO			
CD3			
CD68			
SM-Aktin			
TGF- β			
HLA-DR			
MC-Trypcase			

sonstige Färbung / Immunhisto (Text):

	Nein=0	Ja=1
EIMi		

Molekularbiologie			
PCR			
MYOKARDBIOPSIE		SYSTEMISCHER NACHWEIS	
Erreger	Erreger	Erreger	Erreger
EV	FSME Virus	EV	FSME Virus
ECHO	Rubella	ECHO	Rubella
ADV	Coxiella	ADV	Coxiella
PVB19	Mykobak.	PVB19	Mykobak.
HCMV	Mycoplas.	HCMV	Mycoplas.
CHLA	Aspergillus	CHLAMYD	Aspergillus
BORR	Toxoplas.	BORRELIA	Toxoplas.
HSV 1	Pneumocy.	HSV 1	Pneumocy.
HSV 2	HHV6	HSV 2	HHV6
INF A	SONSTIGE	INF A	SONSTIGE
INF B		INF B	
HCV	Coxackie A	HCV	Coxackie A
EBV	Coxackie B	EBV	Coxackie B

QUANTITATIVE PCR 0=nein 1=ja

Ergebnisse:.....

SEQUENZIERUNG 0=nein 1=ja

Ergebnisse:.....

Klinische Befunde	
ERKRANKUNGSDAUER bis Erstbiopsie:.....Monat(e)	
NYHA Stadium (1-4)	LVEF (%).....% LVEDP (mmHg).....mmHg
ENDDIAST. DURCHM. (mm)	PAMP (mmHg).....mmHg
ARRHYTHMIE	<input type="radio"/> 0=nein <input type="radio"/> 1=ja <input type="radio"/> 2=keine Angabe
REGIONALE HYPOKINESIE	<input type="radio"/> 0=nein <input type="radio"/> 1=ja <input type="radio"/> 2=keine Angabe
THERAPIE symptomatisch	<input type="radio"/> 0=nein <input type="radio"/> 1=ja <input type="radio"/> 2=keine Angabe
immunsuppressiv	<input type="radio"/> 0=nein <input type="radio"/> 1=ja <input type="radio"/> 2=keine Angabe
Interferon	<input type="radio"/> 0=nein <input type="radio"/> 1=ja <input type="radio"/> 2=keine Angabe
KLINISCHE STUDIE	<input type="radio"/> 0=nein <input type="radio"/> 1=ja <input type="radio"/> 2=keine Angabe

VERLAUF:

0=keine Angabe
1=gebessert
2=verschlechtert
3=unverändert
4=HTX
5=verstorben

2.9 AUSWERTUNG

2.9.1 Studienpatienten

2.9.1.1 Auswahlkriterien

Hauptkriterium für die Aufnahme in die Studie war die vollständig durchgeführte Tripledagnostik an den jeweiligen Endomyokardbiopsien. Weiterhin wurden nur Patienten aufgenommen, bei denen sowohl der molekularbiologische Nachweis für PVB19 als auch für HHV6 geführt wurde. Die Anzahl der möglichen Erregernachweise ist von der Menge des eingesendeten Materials und der daraus extrahierbaren Menge an Nukleinsäure abhängig, sodass im Einzelfall in der Routinediagnostik bei Fragestellung nach anderen Viren kein Nachweis auf PVB19 oder HHV6 geführt wurde. Im statistischen Sinn kann hier also ein systematischer Fehler ausgeschlossen werden. Weitere Ausschlusskriterien waren der Zustand nach Herztransplantation, da hier durch die erforderliche immunsuppressive Therapie eine Infektion mit kardiotropen Erregern begünstigt wird sowie die koronare Herzkrankheit. Um unabhängige Daten zu erhalten, welche die statistische Analyse ermöglichen, wurde von jedem Patienten nur die Erstbiopsie verwendet. Dies war auch aufgrund der unterschiedlichen histopathologischen Bewertungskriterien von Erstbiopsien und Kontrollbiopsien entsprechend der Dallas-Klassifikation erforderlich.¹²

2.9.1.2 Bildung von Diagnosegruppen

Zur Auswertung des Datenmaterials wurden die histologischen Diagnosen entsprechend der Dallas-Klassifikation und der WHO-Klassifikation gruppiert. Mit Ausnahme der inflammatorischen Kardiomyopathie wurden die nicht virusassoziierten spezifischen und nichtklassifizierbaren Kardiomyopathien sowie HCM/HOCM, RCM und ARVD als

¹² Vgl. Kap. 2.4

sonstige Kardiomyopathien zusammengefasst. Im Einzelnen wurden folgende Gruppen gebildet:

- akute (aktive) Myokarditis
- borderline Myokarditis
- DCM
- Normalbefund
- sonstige Kardiomyopathien

2.9.2 Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe wurde aus kardial gesunden Personen gebildet, die durch Unfälle, Gewaltverbrechen oder Suizid zu Tode kamen. Das Myokardgewebe der Kontrollgruppe wurde autoptisch gewonnen und vom Institut für gerichtliche Medizin der Universität Tübingen zu Verfügung gestellt. Die Proben wurden entsprechend dem Vorgehen bei den eingesendeten Endomyokardbiopsien im Institut für Pathologie aufgearbeitet. Eine Kontrollgruppe, welche sich aus bioptisch gewonnenem Gewebe von Patienten bei denen der Verdacht auf eine kardiale Erkrankung bestand zusammensetzt, wie in anderen Studien beschrieben, erschien nicht als ausreichend zur Beantwortung der Fragestellungen [71, 81, 108, 141].

2.9.3 Statistik

In Anlehnung an vorausgegangene Studien erfolgten die Analysen sowie die Darstellung der Ergebnisse in Abhängigkeit vom PCR-Befund [71, 78, 81, 109, 141].

Die statistische Analyse wurde mit dem Programm JMP 5.0.1¹³ durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf 5% festgesetzt. Logistische Regressionen mit der Bestimmung von Odds Ratios (OR) und deren 95% Konfidenzintervallen (95% KI) wurde durchgeführt, um den Einfluss der folgenden Faktoren und deren Wechselwirkungen auf den Nachweis von PVB19 bzw. HHV6 zu untersuchen:

- morphologische Diagnose
- interstitielle Entzündungsreaktion¹⁴
- Nachweis von HHV6
- Altersgruppe (<10 Jahre gegenüber ≥ 10 Jahre)

Da keine der Wechselwirkungen der Faktoren untereinander signifikant war, wurden diese aus dem Modell entfernt. Die Güte des Modells wurde mit dem χ^2 -Test überprüft [129].

Die Bezeichnung Chancenverhältnis leitet sich aus der Tatsache ab, dass sich das Berechnungsergebnis auch als Quotient kreuzweise miteinander multiplizierter Häufigkeiten der Tabelle darstellen lässt. Das Chancenverhältnis ist ein Quotient zweier konditionaler Odds. Daher die englische Bezeichnung Odds Ratio. Odds Ratios fungieren in der Epidemiologie im Rahmen von Fall-Kontroll-Studien als Schätzer für das relative Risiko, d.h. für das Krankheitsrisiko der Untersuchungsgruppe relativ zum Risiko der Kontrollgruppe.

Weiterhin wurde mithilfe des exakten Tests von Fisher untersucht, bei welchen Diagnosegruppen die interstitielle Entzündungsreaktion und der PVB19- bzw. HHV6- Nachweis assoziiert sind. Für die statistische Analyse der klinischen Diagnose in Abhängigkeit vom PVB19- bzw. HHV6-Nachweis wurde der χ^2 -Test nach Pearson durchgeführt.

¹³ SAS Institute Inc., SAS Campus Drive, Cary, North Carolina, USA, www.jmp.com

¹⁴ Vgl. Kap. 2.4

Wenn multiple Vergleiche innerhalb der Diagnosegruppen durchgeführt wurden, erfolgte eine Adjustierung des Signifikanzniveaus nach der Methode von Bonferroni-Holm um einer Kumulierung des α -Fehlers vorzubeugen [63].

Die Auswertung von Erkrankungsdauer, Ejektionsfraktion sowie des NYHA Grades erfolgte deskriptiv in Abhängigkeit vom PVB19- bzw. HHV6-Nachweis der Endomyokardbiopsie.

Die Beschreibung der Verteilung der untersuchten Parameter erfolgte unter Angabe des Medians sowie des jeweiligen Minimums (min) und Maximums (max), da diese Variablen nicht symmetrisch verteilt waren.

3 Ergebnisse

3.1 STUDIENKOLLEKTIV

3.1.1 Verteilung von Alter und Geschlecht

Das Studienkollektiv setzte sich aus 1362 Patienten¹⁵, welche die Kriterien der Tripeldiagnostik erfüllten, sowie 34 Individuen der Kontrollgruppe, welche ebenfalls einer vollständigen Tripeldiagnostik unterzogen wurden, zusammen. Das Patientenkollektiv setzte sich aus 945 (69.4%) männlichen und 417 (30.6%) weiblichen Patienten zusammen. Der Median des Alters der Patienten lag bei 43.6 Jahren (0.02-80.9 Jahre). Die Kontrollgruppe setzte sich aus 22 (64.7%) männlichen sowie 12 (35.3%) weiblichen Individuen zusammen. Der Median des Alters der Kontrollgruppe betrug 29.0 Jahre (1.1-75.0 Jahre). Die Tabelle 4 gibt eine Übersicht über die Verteilung von Alter und Geschlecht im Studienkollektiv.

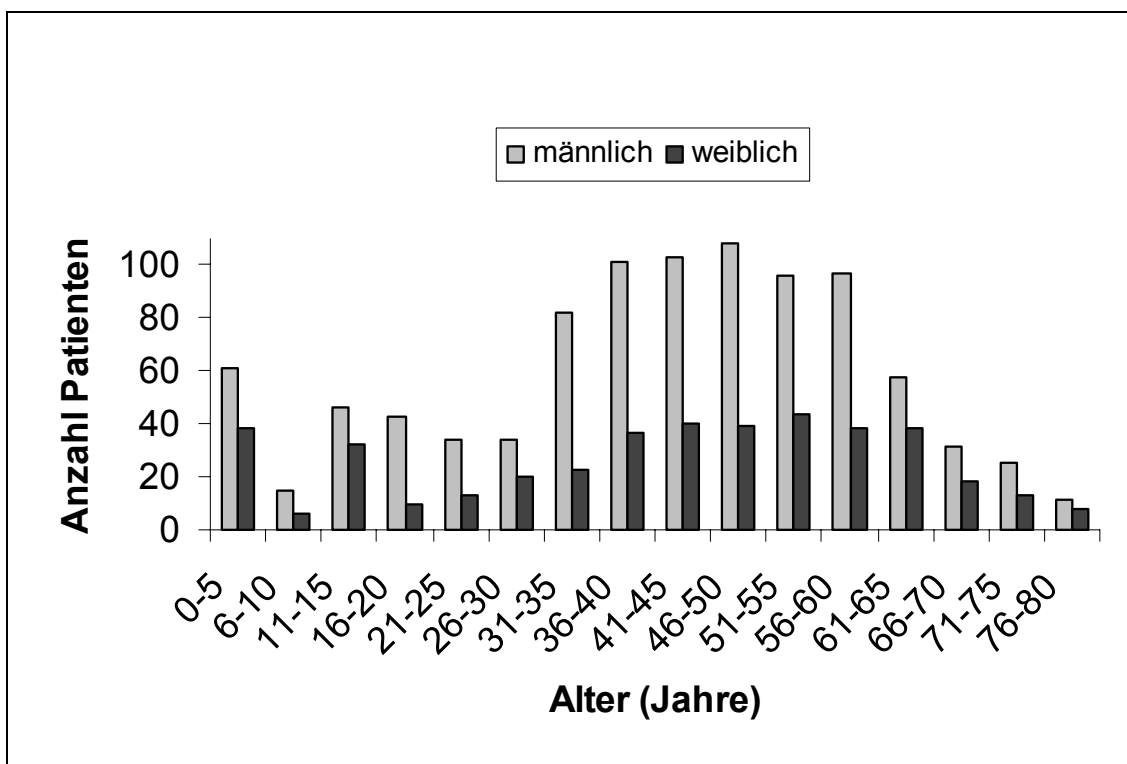
Tabelle 4: Übersicht: Altersverteilung und Verteilung des Geschlechts im Studienkollektiv.

	Patientenkollektiv	Kontrollgruppe
Anzahl der Personen		
Gesamt	1362	34
männlich	945 (69.4%)	22 (64.7%)
weiblich	417 (30.6%)	12 (35.3%)
Median des Alters in Jahren (min-max)	43.6 (0.02-80.9)	29 (1.1-75.0)

¹⁵ Im Folgenden als Patientenkollektiv bezeichnet

Die Altersverteilung des Patientenkollektivs folgte keiner Normalverteilung. Eine auffällige Häufung der Anzahl war bei Patienten im Alter von 0-5 Jahren, 11-15 Jahren sowie 36-60 Jahren zu verzeichnen. Letztgenannte bildeten mit 703 (51,6%) Patienten den größten Anteil am Kollektiv. Die Abbildung 13 zeigt die Altersverteilung des Patientenkollektivs in 5-Jahres Klassen.

Abbildung 13: Altersverteilung im Patientenkollektiv. Einteilung in 5-Jahres Klassen.



3.1.2 Histologie

3.1.2.1 Patientenkollektiv

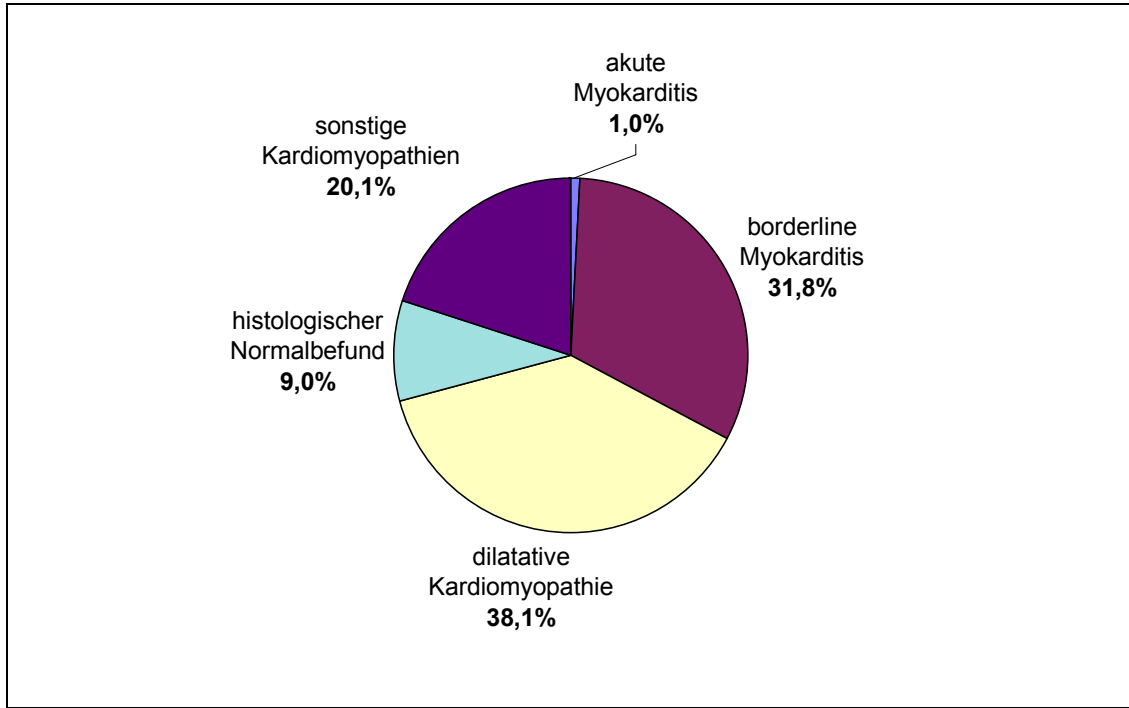
Nach der histologischen Aufarbeitung und Diagnosestellung erfolgte die Verteilung auf die im Studienplan zuvor definierten Diagnosegruppen. Mit 519 (38.1%) Patienten stellte die DCM die häufigste Hauptdiagnose dar. In 433 (31.8%) Fällen konnte die Diagnose einer borderline Myokarditis gestellt werden. Die Kriterien einer akuten Myokarditis

waren bei 13 (1.0%) der Fälle erfüllt. Ein histologischer Normalbefund konnte bei 123 (9.0%) Patienten gefunden werden. 274 (20.1%) der Patienten wurden entsprechend der festgelegten Definition in der Gruppe sonstige Kardiomyopathien zusammengefasst. Die Anzahl der Patienten innerhalb der jeweiligen Diagnosegruppe sowie deren relativer Anteil innerhalb des Patientenkollektivs wird von Tabelle 5 und Abbildung 14 wiedergegeben.

Tabelle 5: Diagnosegruppen im Patientenkollektiv. Absoluter und relativer Anteil.

Diagnosegruppe	Patienten mit entsprechender Diagnose	
	n	%
akute Myokarditis	13	1.0
borderline Myokarditis	433	31.8
dilatative Kardiomyopathie	519	38.1
histologischer Normalbefund	123	9.0
sonstige Kardiomyopathien	274	20.1

Abbildung 14: Übersicht: Relativer Anteil der Diagnosegruppen im Patientenkollektiv.



Die Tabelle 6 gibt eine Übersicht über alle Diagnosen, welche entsprechend dem Studienplan in der Gruppe der sonstigen Kardiomyopathien zusammengefasst wurden.

Tabelle 6: Diagnosen in der Gruppe sonstige Kardiomyopathien. Absoluter und relativer Anteil.

Diagnose	Patienten mit entsprechender Diagnose	
	n	%
ARVCM	40	14.6
HCM/HOCM	38	13.9
RCM	20	7.3
nicht klassifizierbare Kardiomyopathien	3	1.1
spezifische Kardiomyopathien	173	63.1

3.1.2.2 Kontrollgruppe

Die histologische Aufarbeitung der Proben der Individuen der Kontrollgruppe ergab in allen Fällen einen histologisch und immunhistologisch normalen Myokardbefund.

3.2 PRÄVALENZ VON PVB19 UND HHV6

In dieser Studie konnte PVB19 bei 542 (39.8%) der Patienten nachgewiesen werden und stellte damit in diesem Kollektiv von Endomyokardbiopsien das Virus mit der höchsten Prävalenz dar. HHV6 wurde bei 243 (17.8%) nachgewiesen und besaß die zweithöchste Prävalenz. Bei 140 (10.3%) dieser Patienten konnte eine Doppelinfektion von PVB19 und HHV6 gefunden werden. Die Präsenz von PVB19 bei gleichzeitigem Ausschluss von HHV6 konnte bei 402 (29.5%) Patienten, die Präsenz von HHV6 bei gleichzeitigem Ausschluss von PVB19 konnte bei 103 (7.6%) Patienten festgestellt werden. Der Nachweis von HHV6 war somit in 57.6% der Fälle mit dem gleichzeitigen Nachweis von PVB19 assoziiert. Die logistische Regression ergab einen adjustierten OR von 2.5 (95% KI 1.9-3.4) für die Assoziation zwischen dem Nachweis von HHV6 und dem Nachweis von PVB19. Die Tabelle 7 stellt die Prävalenz von PVB19 und HHV6 im untersuchten Patientenkollektiv dar.

Tabelle 7: Prävalenz von PVB19 und HHV6 im Patientenkollektiv.

		PVB19		
		Positiv	negativ	Gesamtzahl
HHV6	Positiv	140 ⁴⁾	103 ³⁾	243
	Negativ	402 ²⁾	717 ¹⁾	1119
	Gesamtzahl	542	820	1362

¹⁾ im Folgenden als PVB19-/HHV6- bzw. Patienten mit Ausschluss einer Infektion bezeichnet

²⁾ im Folgenden als PVB19+/HHV6- bzw. Patienten mit Nachweis nur von PVB19 bezeichnet

³⁾ im Folgenden als PVB19-/HHV6+ bzw. Patienten mit Nachweis nur von HHV6 bezeichnet

⁴⁾ im Folgenden als PVB19+/HHV6+ bzw. Patienten mit Nachweis einer Doppelinfektion bezeichnet

In der Kontrollgruppe konnte PVB19 bei 2 (5.9%) Patienten und HHV6 bei 4 (11.8%) Patienten nachgewiesen werden. Bei keinem der Patienten der Kontrollgruppe konnte eine Doppelinfektion gefunden werden.

3.3 ALTER UND GESCHLECHT BEI VIRUSNACHWEIS

Zunächst erfolgte die Analyse der Altersverteilung des Patientenkollektivs und der Kontrollgruppe nach PCR-Befund. Patienten, bei welchen eine Infektion ausgeschlossen werden konnte, wiesen eine Median des Alters von 44.1 Jahren (0.02-80.9 Jahre) auf. Bei Patienten mit Nachweis nur von PVB19- oder einer Doppelinfektion konnte mit 43.1 Jahren (0.9-78.7 Jahre) bzw. 43.3 Jahren (0.7-77.1 Jahre) demgegenüber ein nur leicht geringerer Median des Alters festgestellt werden. Der Median des Alters bei Patienten mit Nachweis nur von HHV6 entsprach dem der Patienten mit Ausschluß einer Infektion (0.3-78 Jahre). Die Individuen der Kontrollgruppe waren insgesamt jünger. Bei Individuen mit Ausschluss einer Infektion konnte ein Median des Alters von 29.0 Jahren (1.03-75 Jahre) festgestellt werden. PVB19 konnte bei 2 Individuen im Alter von 36 und 51 Jahren nachgewiesen werden. Der Median des Alters bei 4 Individuen mit Nachweis von HHV6 lag bei 25.0 Jahren (13.0-39.0). Die Verteilung von Alter und

Geschlecht der Patienten und der Individuen der Kontrollgruppe zeigte in Abhängigkeit vom PCR-Befundes keine überzufälligen Abweichungen von der des Gesamtkollektivs. Eine Übersicht über die Verteilung von Alter und Geschlecht bei den Patienten und Individuen der Kontrollgruppe geben die Tabelle 8 und die Tabelle 9.

Tabelle 8: Verteilung von Alter und Geschlecht im Patientenkollektiv in Abhängigkeit vom PCR-Befund.

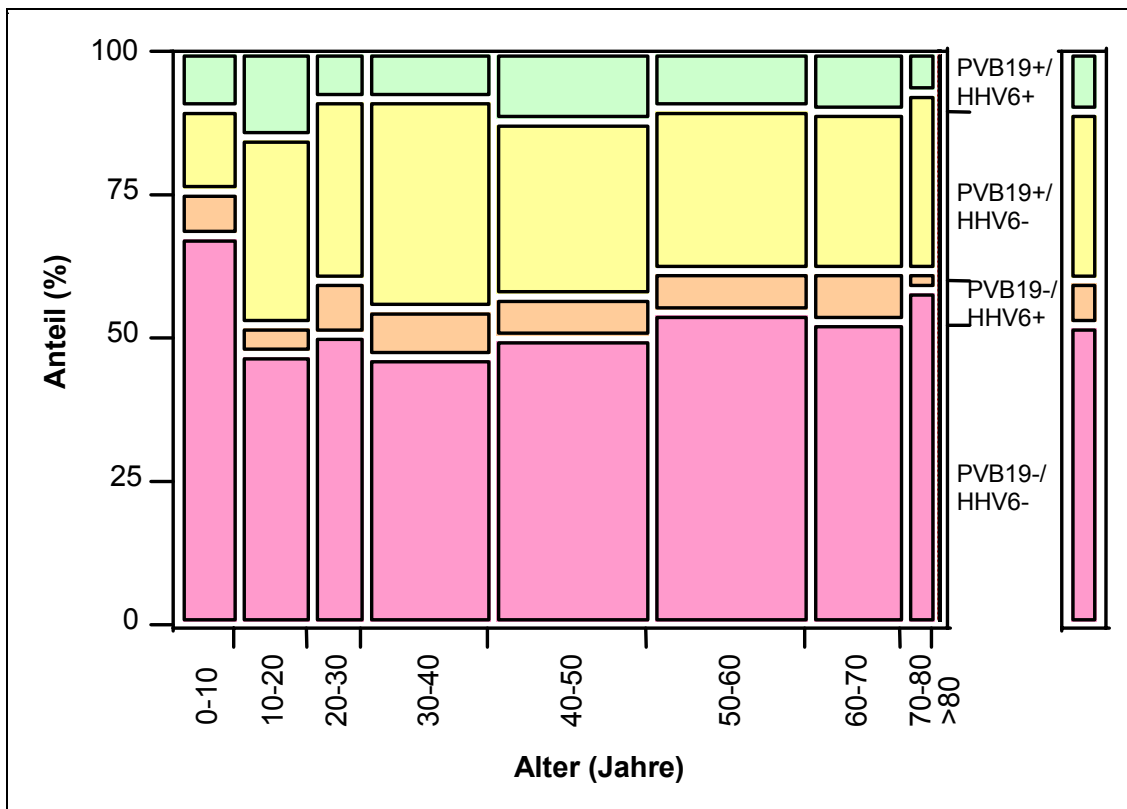
Anzahl	PCR-Befund			
	PVB19-/ HHV6-	PVB19+/ HHV6-	PVB19-/ HHV6+	PVB19+/ HHV6+
Gesamt	717	402	103	140
männlich	491 (68.5%)	290 (72.1%)	66 (64.1%)	98 (70.0%)
weiblich	226 (31.5%)	112 (27.9%)	37 (35.9%)	42 (30.%)
Median des Alters in Jahren (min-max)	44.1 (0.02-80.9)	43.1 (0.9-78.7)	44.1 (0.3-78.0)	43.3 (0.7-77.1)

Tabelle 9: Verteilung von Alter und Geschlecht in der Kontrollgruppe in Abhängigkeit vom PCR-Befund.

Anzahl	PCR-Befund		
	PVB19-/ HHV6-	PVB19+/ HHV6-	PVB19-/ HHV6+
Gesamt	28	2	4
männlich	15 (53.6%)	2	4
weiblich	13 (46.4%)		
Median des Alters in Jahren (min-max)	29.0 (1.08-75.0)	36.0 und 51.0	20.5 (13.0-39.0)

Die Analyse des Patientenalters nach Altersklassen von 10 Jahren konnte aufdecken, dass in der Altersklasse über 10 Jahre im Patientenkollektiv eine signifikante Häufung des Nachweises von PVB19 besteht. Es ergab sich ein adjustierter OR von 2.3 (95% KI 1.5-3.8) beim Vergleich der Altersklasse über 10 Jahre mit der Altersklasse unter 10 Jahre. Das Alter der Patienten hatte jedoch keinen Einfluss auf den Nachweis nur von HHV6 oder einer Doppelinfektion. Eine Übersicht über die Verteilung der Prävalenz von PVB19 und HHV6 in den Altersklassen gibt die Abbildung 15.

Abbildung 15: Mosaikplot. Prävalenz von PVB19 und HHV6 nach Altersklassen von 10 Jahren.



3.4 PATHOMORPHOLOGISCHE BEFUNDE

Die zentrale Bedeutung der vorliegenden Arbeit stellte die Gegenüberstellung der pathomorphologischen Befunde und der Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen dar.

3.4.1 Klassifizierung der Befunde

Eine entzündliche Reaktion des Myokards konnte bei 375/645 (58,1%) der Patienten mit positivem Nachweis von PVB19 und/oder HHV6 gefunden werden, entsprechend 260/402 (64,7%) Patienten mit Nachweis nur von PVB19, 37/103 (35,9%) Patienten mit Nachweis nur von HHV6 sowie 78/140 (55,7%) Patienten mit einer Doppelinfection. Aufgrund der histologischen und immunhistologischen Untersuchung konnten folgende Muster klassifiziert werden:

- **akute (aktive) Myokarditis**

Bei der akuten Myokarditis konnten fokale oder multifokale, teils konfluierende Nekroseareale sowie myofibrilläre Degenerationen und ein ausgeprägtes, interstitielles Ödem beobachtet werden. In Bezug zu diesen stand ein fokales oder multifokales bis konfluierendes, mononukleäres Infiltrat, welches durch reichlich CD3-positive T-Lymphozyten und CD68-positive Makrophagen gekennzeichnet war. Letztere zeigten eine deutliche Expression von HLA-Klasse-II-Molekülen, die teilweise auch auf angrenzenden Kapillarendothelien gefunden wurde (vgl. Abbildung 16).

- **borderline Myokarditis**

Myozytennekrosen waren in der Regel nicht nachweisbar. Es zeigten sich leichte bis mittelgradige Kaliberschwankungen der Myozyten. Das entzündliche Infiltrat bei Patienten mit borderline Myokarditis war gegenüber Patienten mit akuter

Myokarditis wesentlich geringer ausgeprägt und wurde durch CD68-positive Makrophagen dominiert. CD3-positive T-Lymphozyten fanden sich nur vereinzelt. Auch hier konnte eine Expression von HLA-Klasse-II-Molekülen auf Makrophagen und teilweise auf angrenzenden Kapillarendothelien festgestellt werden (vgl. Abbildung 17 und 18).

- **DCM**

Das morphologische Bild bei Patienten mit DCM war durch eine irreguläre Hypertrophie der Myozyten mit teils hyperchromatischen Zellkernen und einer Vakuolisierung des Sarkoplasmas geprägt. Es fand sich eine fokal bis multifokal oder diffus ausgeprägte interstitielle, netzförmige Fibrosierung und häufig subendokardial gelegenes Narbengewebe. Die Anzahl der interstitiellen Makrophagen lag im oberen Normbereich. Eine Expression von HLA-Klasse-II-Molekülen konnte nicht festgestellt werden (ohne Abbildung).

- **DCMi**

Die Diagnose DCMi ist in der Dallas-Klassifikation nicht definiert [6]. Bis heute existiert keine einheitliche Charakterisierung [85]. Das entzündliche Infiltrat folgte in seiner Ausprägung dem der Patienten mit borderline Myokarditis und wurde somit dominiert von CD68-positiven Makrophagen und nur vereinzelt CD3-positiven T-Lymphozyten. Eine Expression von HLA-Klasse-II-Molekülen war ebenfalls regelhaft anzutreffen. Zudem fand sich eine Matrix entsprechend der DCM (vgl. Abbildung 19 und 20).

Patienten der Gruppe sonstige Kardiomyopathien zeigten ein pathomorphologisches Bild entsprechend der zugrunde liegenden Erkrankung. Das entzündliche Infiltrat, welches gegebenenfalls gesehen wurde, war dominiert durch CD68-positive Makrophagen. CD3-positive T-Lymphozyten waren in der Regel nicht vorhanden.

Das pathomorphologische Bild bei Patienten mit Nachweis nur von HHV6 oder einer Doppelinfection in der Endomyokardbiopsie unterschied sich nicht von dem der Patienten mit Nachweis nur von PVB19.

Abbildung 16: Akute Myokarditis. Nekrosebereiche umgeben von CD3-positiven T-Lymphozyten (rot) und CD68-positiven Makrophagen (braun). [Originalvergrößerung x60].

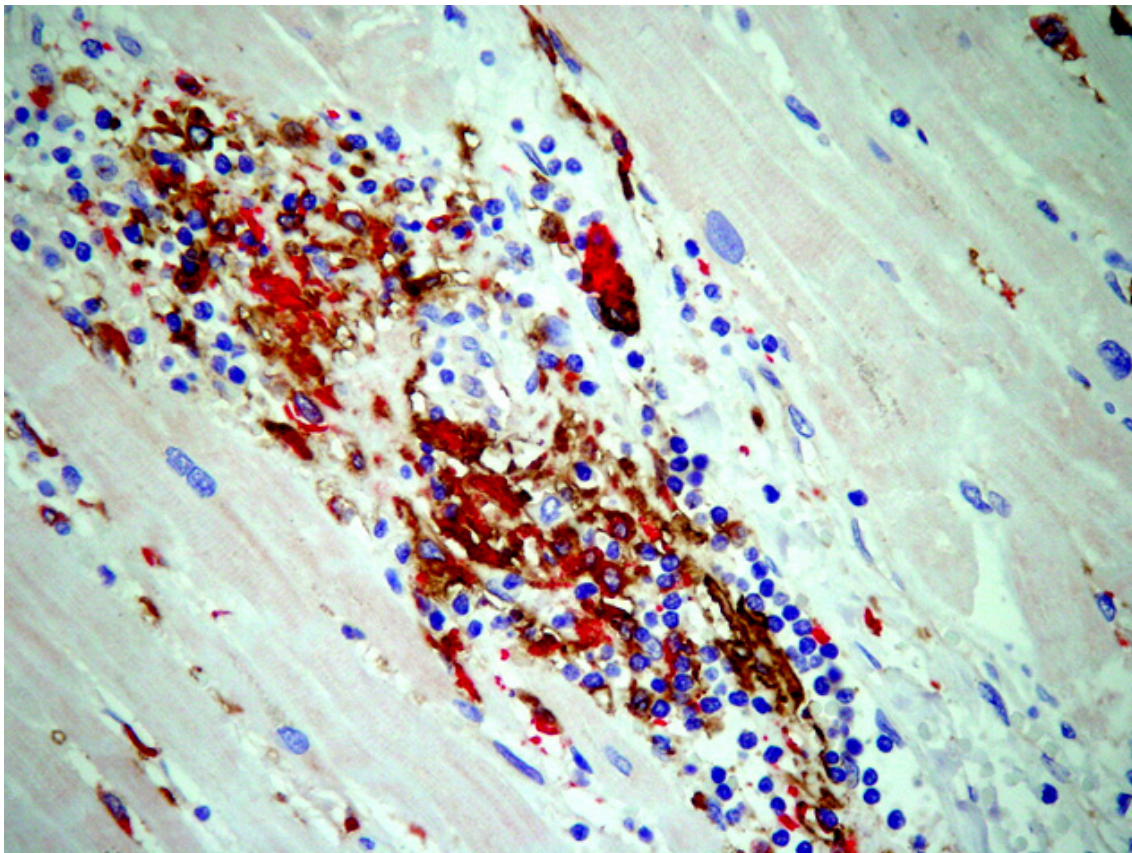


Abbildung 17: Borderline Myokarditis. Masson-Trichrom-Färbung. [Originalvergrößerung x60].

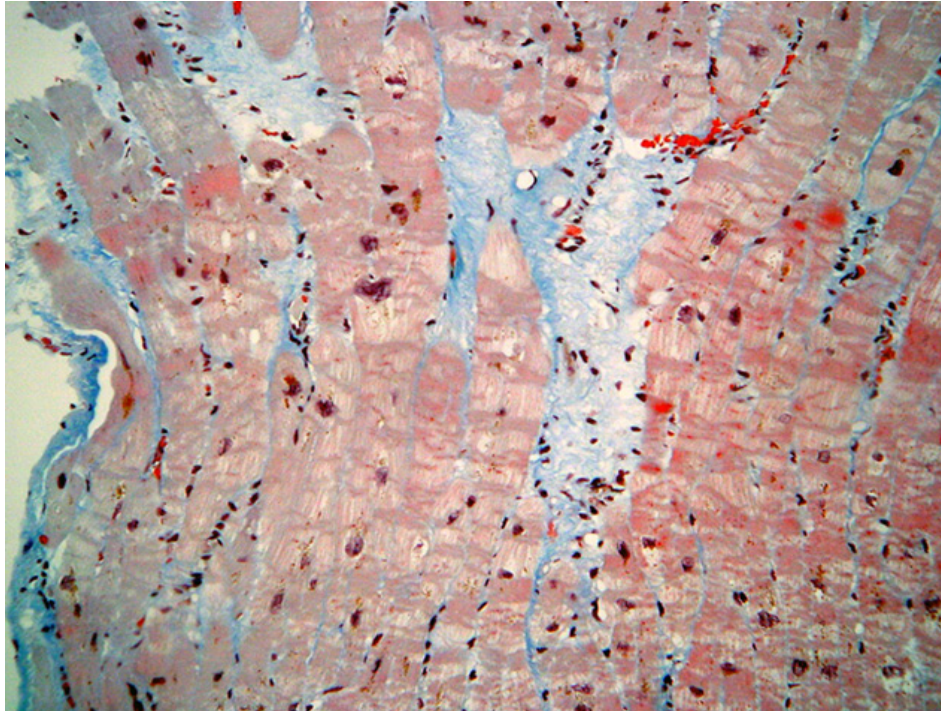


Abbildung 18: Borderline Myokarditis. Von Makrophagen dominiertes, inflammatorisches Infiltrat (rot) mit deutlicher HLA-Klasse-II-DR Expression (braun) auf Endothelzellen. [Originalvergrößerung x60].

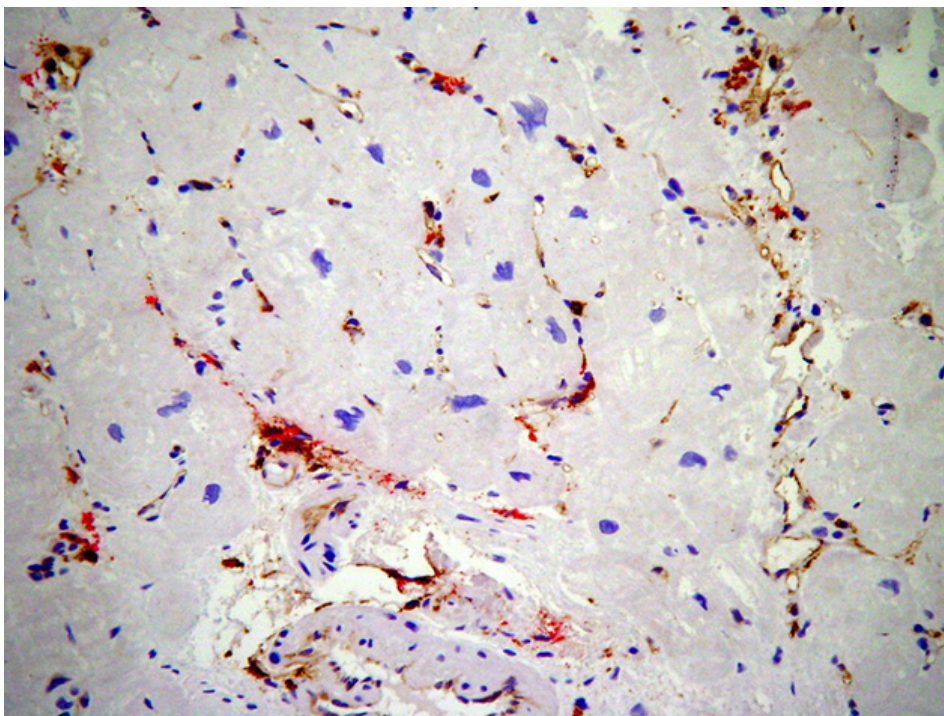


Abbildung 19: Dilatative Kardiomyopathie mit interstitieller Entzündungsreaktion (DCMi). Masson-Trichrom-Färbung. [Originalvergrößerung x80].

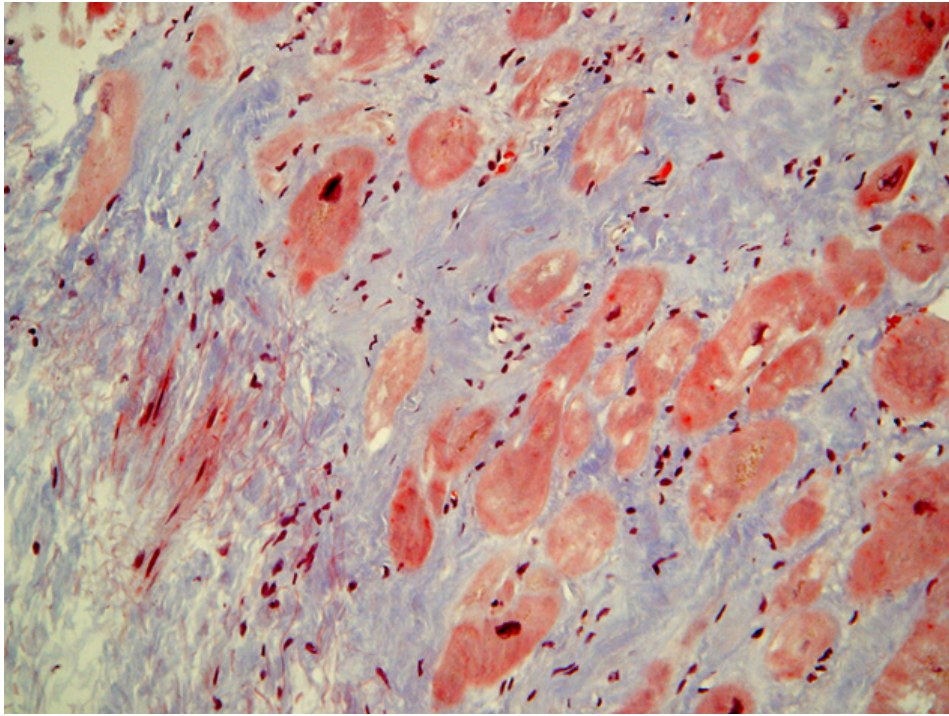
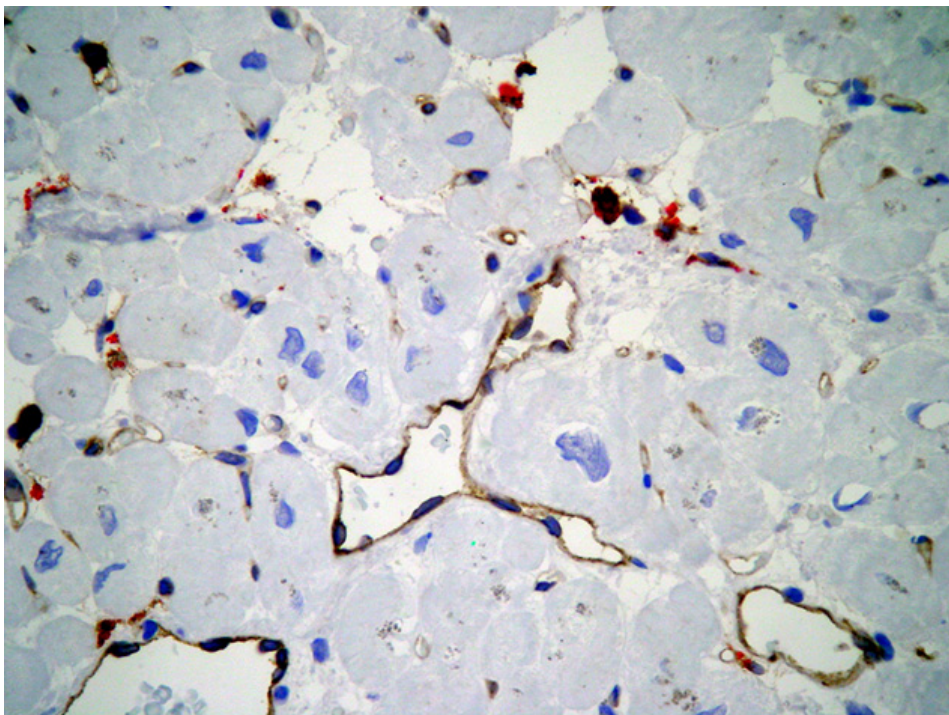


Abbildung 20: DCMi. Von Makrophagen dominiertes inflammatorisches Infiltrat (rot) mit deutlicher HLA-Klasse-II-DR-Expression (braun) auf Endothelzellen. [Originalvergrößerung x80].



3.4.2 Korrelation von Diagnose und Virusnachweis

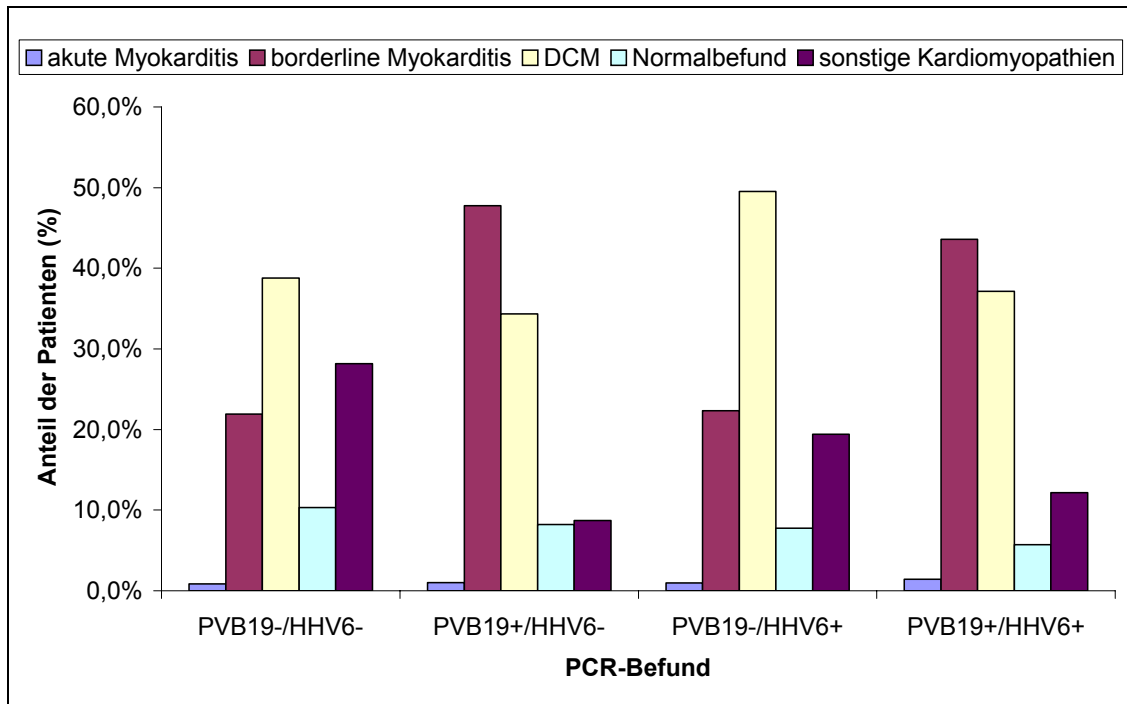
Der Anteil der im Patientenkollektiv gestellten Diagnosen wies in Abhängigkeit vom PCR-Befund teils deutliche Unterschiede auf. Eine akute Myokarditis konnte bei 0.8% der Patienten mit Ausschluss einer Infektion festgestellt werden. Bei Nachweis nur von PVB19 oder nur von HHV6 betrug der Anteil 1.0%, bei Nachweis einer Doppelinfektion 1.4%. Eine borderline Myokarditis wurde bei 21.9% der Patienten mit Ausschluss einer Infektion gesehen. Der Anteil erhöhte sich jedoch signifikant bei Nachweis nur von PVB19 oder einer Doppelinfektion auf 47.8% bzw. 43.6% ($P < 0.0001$, nach Adjustierung $P < 0.0003$ bzw. $P < 0.0001$, nach Adjustierung $P < 0.0002$). Patienten mit Nachweis nur von HHV6 zeigten hingegen nur in 22.3% eine borderline Myokarditis und damit nicht auffällig häufiger als die Gruppe mit Ausschluß einer Infektion. Die Diagnose einer DCM wurde bei 38.8% der Patienten mit Ausschluß einer Infektion gestellt. Bei Patienten mit Nachweis nur von PVB19 oder einer Doppelinfektion war dieser Anteil mit 34.3% bzw. 37.1% kleiner. Patienten mit Nachweis nur von HHV6 zeigten hingegen einen, mit 49.1% der Fälle, grenzwertig signifikant erhöhten Anteil der Diagnose DCM ($P = 0.041$, nach Adjustierung $P = 0.12$). Ein histologischer Normalbefund wurde bei 10.3% der Patienten mit Ausschluss einer Infektion gefunden. Bei Virusnachweis konnte ein jeweils kleinerer Anteil festgestellt werden. Ein Normalbefund lag bei 8.7% der Patienten mit Nachweis nur von PVB19, bei 7.8% der Patienten mit Nachweis nur von HHV6 und 5.7% der Patienten mit Doppelinfektion vor. Die Diagnosen von 28.2% der Patienten mit Ausschluss einer Infektion konnten der Gruppe sonstige Kardiomyopathien zugeordnet werden. Bei Nachweis nur von PVB19 waren dies nur 8.2%. Kleiner als bei Ausschluss einer Infektion jedoch höher als bei Nachweis nur von PVB19 war der Anteil der sonstigen Kardiomyopathien bei Patienten mit Doppelinfektion in 12.1% der Fälle und bei Nachweis nur von HHV6 in 19.4% der Fälle. Die Tabelle 10 und die Abbildung 21 geben eine Übersicht über die Verteilung der Diagnosen im Patientenkollektiv in Abhängigkeit vom PCR-Befund.

Tabelle 10: Übersicht. Verteilung der Diagnosegruppen im Patientenkollektiv in Abhängigkeit vom PCR-Befund. Absoluter und relativer Anteil innerhalb der jeweiligen Gruppe.

Diagnosegruppe	PCR-Befund			
	PVB19-/ HHV6-	PVB19+/ HHV6-	PVB19-/ HHV6+	PVB19+/ HHV6+
akute Myokarditis	6/717 (0.8%)	4/402 (1.0%)	1/103 (1.0%)	2/140 (1.4%)
borderline Myokarditis	157/717 (21.9%)	192/402 (47.8%) ¹⁾	23/103 (22.3%)	61/140 (43.6%) ²⁾
DCM	278/717 (38.8%)	138/402 (34.3%)	51/103 (49.5%) ³⁾	52/140 (37.1%)
Normalbefund	74/717 (10.3%)	33/402 (8.2%)	8/103 (7.8%)	8/140 (5.7%)
sonstige Kardiomyopathien	202/717 (28.2%)	35/402 (8.7%)	20/103 (19.4%)	17/140 (12.1%)

¹⁾ P<0.0001, nach Adjustierung P<0.0003 (Vergleich mit PVB19-/HHV6-)
²⁾ P<0.0001, nach Adjustierung P<0.0002 (Vergleich mit PVB19-/HHV6-)
³⁾ P=0.041, nach Adjustierung P=0.12 (Vergleich mit PVB19-/HHV6-)

Abbildung 21: Verteilung der Diagnosegruppen im Patientenkollektiv in Abhängigkeit vom PCR-Befund. Relativer Anteil der Diagnosegruppen.



3.4.3 Korrelation von entzündlicher Reaktion und Virusnachweis

Die logistische Regression konnte aufzeigen, dass der Nachweis von PVB19 im Myokard, unabhängig von der Diagnose, mit einem 1.7-fach erhöhten Risiko einer inflammatorischen Reaktion einhergeht (OR 1.7, 95% KI 1.2-2.4). Für HHV6 konnte im Gegensatz dazu in dieser Stichprobe ein vermindertes Risiko einer inflammatorischen Reaktion nachgewiesen werden (OR 0.6, 95% KI 0.4-0.9).

Patienten mit der morphologischen Hauptdiagnose einer akuten Myokarditis oder einer borderline Myokarditis wiesen definitionsgemäß eine Entzündungsreaktion auf.¹⁶ Patienten mit histologischem Normalbefund zeigten keine Anzeichen einer Entzündung. In den Gruppen mit der morphologischen Hauptdiagnose DCM und sonstigen Kardiomyopathien konnte diese jedoch gegebenenfalls zusätzlich festgestellt werden.

¹⁶ Vgl. Kap. 2.4

21.6% der Patienten der Gruppe DCM, bei denen eine Infektion ausgeschlossen werden konnte, wiesen eine entzündliche Begleitreaktion des Gewebes auf. Der Nachweis nur von PVB19 bedingte das signifikant häufigere Auftreten einer Entzündungsreaktion ($P=0.0001$, nach Adjustierung $P=0.0003$). Diese konnte bei 39.9% der Patienten festgestellt werden. Patienten mit Nachweis einer Doppelinfection wiesen demgegenüber nur in 26.9% und Patienten mit Nachweis nur von HHV6 in 23.5% der Fälle eine Entzündungsreaktion auf. In der Gruppe sonstige Kardiomyopathien konnte eine entzündliche Begleitreaktion bei 24.8% der Patienten mit Ausschluss einer Infektion festgestellt werden. Bei Patienten mit Nachweis nur von PVB19 konnte diese in 25.7% der Fälle gesehen werden. Patienten mit Nachweis nur von HHV6 wiesen demgegenüber nur in 5.0% der Fälle einen entsprechenden Befund auf ($P=0.051$, nach Adjustierung $P=0.153$). Auch Patienten mit Nachweis einer Doppelinfection des Myokards wiesen nur in 5.9% der Fälle eine entzündliche Begleitreaktion auf. Die Tabelle 11 gibt eine Übersicht über den absoluten und relativen Anteil der Patienten mit inflammatorischer Reaktion des Myokards in Abhängigkeit vom PCR-Befund.

Tabelle 11: Übersicht. Patienten mit Entzündungsreaktion nach Diagnosegruppen in Abhängigkeit vom PCR-Befund. Absoluter und relativer Anteil.

Diagnosegruppe	PCR-Befund			
	PVB19-/ HHV6-	PVB19+/ HHV6-	PVB19-/ HHV6+	PVB19+/ HHV6+
akute Myokarditis	6/6 (100.0%)	4/4 (100.0%)	1/1 (100.0%)	2/2 (100.0%)
borderline Myokarditis	157/157 (100.0%)	192/192 (100.0%)	23/23 (100.0%)	61/61 (100.0%)
DCM	60/278 (21.6%)	55/138 (39.9%) ¹⁾	12/51 (23.5%)	14/52 (26.9%)
Normalbefund	0/74	0/34	0/8	0/8
sonstige Kardiomyopathien	50/202 (24.8%)	9/35 (25.7%)	1/20 (5.00%) ²⁾	1/17 (5.9%)

¹⁾ P=0.0001, nach Adjustierung P=0.0003 (Vergleich mit PVB19-/HHV6-)

²⁾ P=0.051, nach Adjustierung P=0.153 (Vergleich mit PVB19-/HHV6-)

3.4.4 Statistischer Vergleich der untersuchten Gruppen

Mittels logistischer Regression wurden Odds Ratios beim Vergleich der einzelnen Diagnosen untereinander sowie beim Vergleich mit der Kontrollgruppe gebildet. Um eine übersichtliche Analyse zu ermöglichen, wurden die Patienten der Gruppe akute Myokarditis mit sehr kleiner Fallzahl sowie die Gruppe borderline Myokarditis zusammengefasst und im folgenden Abschnitt als Myokarditis bezeichnet. Die Darstellung für PVB19 und HHV6 erfolgte getrennt.¹⁷ Teilweise große Konfidenzintervalle resultieren aus der kleinen Fallzahl der Kontrollgruppe.

¹⁷ Vgl. Kap. 2.9.3

Für Patienten mit Myokarditis konnte ein 12.2 faches Risiko für PVB19 (OR 12.2, 95% KI 1.2-221.8) gegenüber den Individuen der Kontrollgruppe aufgedeckt werden. Auch Patienten, bei denen ein histologischer Normalbefund vorlag, zeigten gegenüber der Kontrollgruppe ein 7.5 fach erhöhtes Risiko (OR 7.5, 95% KI 1.3-78.1) einer PVB19-Infektion. Beim Vergleich der Diagnosegruppen untereinander konnten ebenfalls unterschiedliche Risiken einer PVB19-Infektion festgestellt werden. Patienten mit Myokarditis zeigten ein 1.7 fach erhöhtes Risiko (OR 1.7, 95% KI 1.2-2.5) einer PVB19-Infektion gegenüber Patienten mit DCM, sowie ein 3.8 fach erhöhtes Risiko (OR 3.8, 95% KI 1.3-11.1) gegenüber Patienten mit sonstigen Kardiomyopathien. Patienten mit sonstigen Kardiomyopathien wiesen ein um den Faktor 0.4 (OR 0.4, 95% KI 0.3-0.7) vermindertes Risiko einer Infektion gegenüber den Patienten mit Normalbefund auf. Bei allen weiteren Vergleichen der Wahrscheinlichkeiten für eine PVB19-Infektion konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Diagnosegruppen festgestellt werden. Bei HHV6 konnte nur zwischen Patienten mit Myokarditis und Patienten mit Normalbefund ein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden (OR 2.1, 95% KI 1.1-4.7). Die übrigen Diagnosegruppen unterschieden sich nicht signifikant. Die Tabelle 12 und die Tabelle 13 zeigen alle Ergebnisse der statistischen Analyse für PVB19 und HHV6 beim Vergleich der Diagnosegruppen sowie der Kontrollgruppe.

Tabelle 12: Statistischer Vergleich der Diagnosegruppen untereinander sowie mit der Kontrollgruppe bezüglich PVB19-Nachweis.

Vergleich der Gruppen	Odds Ratio (OR)	95% KI (untere Grenze)	95% KI (obere Grenze)
Myokarditis versus Kontrolle	12.2 ^{*)}	1.2	221.8
DCMP versus Kontrolle	7.0	0.5	182.2
Sonstige versus Kontrolle	3.2	0.9	20.1
Normalbefund versus Kontrolle	7.5 ^{*)}	1.3	78.1
Myokarditis versus DCMP	1.7 ^{*)}	1.2	2.5
Myokarditis versus Sonstige	3.8 ^{*)}	1.3	11.1
Myokarditis versus Normalbefund	1.6	0.9	2.8
DCMP versus Sonstige	2.2	0.5	9.1
DCMP versus Normalbefund	0.9	0.4	2.3
Sonstige versus Normalbefund	0.4 ^{*)}	0.3	0.7

^{*)} statistisch signifikantes Ergebnis

Tabelle 13: Statistischer Vergleich der Diagnosegruppen untereinander sowie mit der Kontrollgruppe bezüglich HHV6-Nachweis.

Vergleich der Gruppen	Odds Ratio (OR)	95% KI (untere Grenze)	95% KI (obere Grenze)
Myokarditis versus Kontrolle	3.9	0.3	100.2
DCM versus Kontrolle	3.3	0.1	136.5
Sonstige versus Kontrolle	2.3	0.7	15.0
Normalbefund versus Kontrolle	1,8	0.3	21.3
Myokarditis versus DCM	1.2	0.7	1.9
Myokarditis versus Sonstige	1.7	0.4	6.7
Myokarditis versus Normalbefund	2.1 ^{*)}	1.1	4.7
DCM versus Sonstige	1.4	0.2	9.1
DCM versus Normalbefund	1.9	0.6	6.4
Sonstige versus Normalbefund	1.3	0.7	2.6

^{*)} statistisch signifikantes Ergebnis

3.5 KLINISCHE DIAGNOSE

3.5.1 Klinische Diagnose im Patientenkollektiv

Die klinische Diagnose war bei 1342 (98.5%) Patienten bekannt. Die klinische Diagnose oder Differenzialdiagnose einer inflammatorischen Kardiomyopathie stellte mit 70.1% im Patientenkollektiv die Hauptindikation zur Biopsieentnahme dar. Patienten, bei welchen histologisch eine akute Myokarditis gesichert werden konnte, wurden auch alle klinisch als solche erkannt. Der Anteil einer bereits klinisch diagnostizierten entzündlichen Kardiomyopathie war bei Patienten die histologisch das Bild einer borderline Myokarditis zeigten mit 82.9% erwartungsgemäß groß. Eine entsprechende klinische Diagnose wurde aber auch bei 69.7% der Patienten mit Normalbefund, 69.0% der Patienten mit DCM und 50.9% der Patienten der Gruppe sonstige Kardiomyopathien gestellt. Bei Patienten mit DCM und sonstigen Kardiomyopathien, bei welchen sich nebenbefundlich eine interstitielle Entzündungsreaktion zeigte (DCM n=141, sonstige Kardiomyopathien n=59) wurde klinisch nicht häufiger eine inflammatorische Kardiomyopathie vermutet als bei entsprechenden Patienten ohne Entzündungsreaktion. Die Tabelle 14 zeigt den absoluten und relativen Anteil der Patienten mit der klinischen Diagnose einer inflammatorischen Kardiomyopathie im Patientenkollektiv nach Diagnosegruppen.

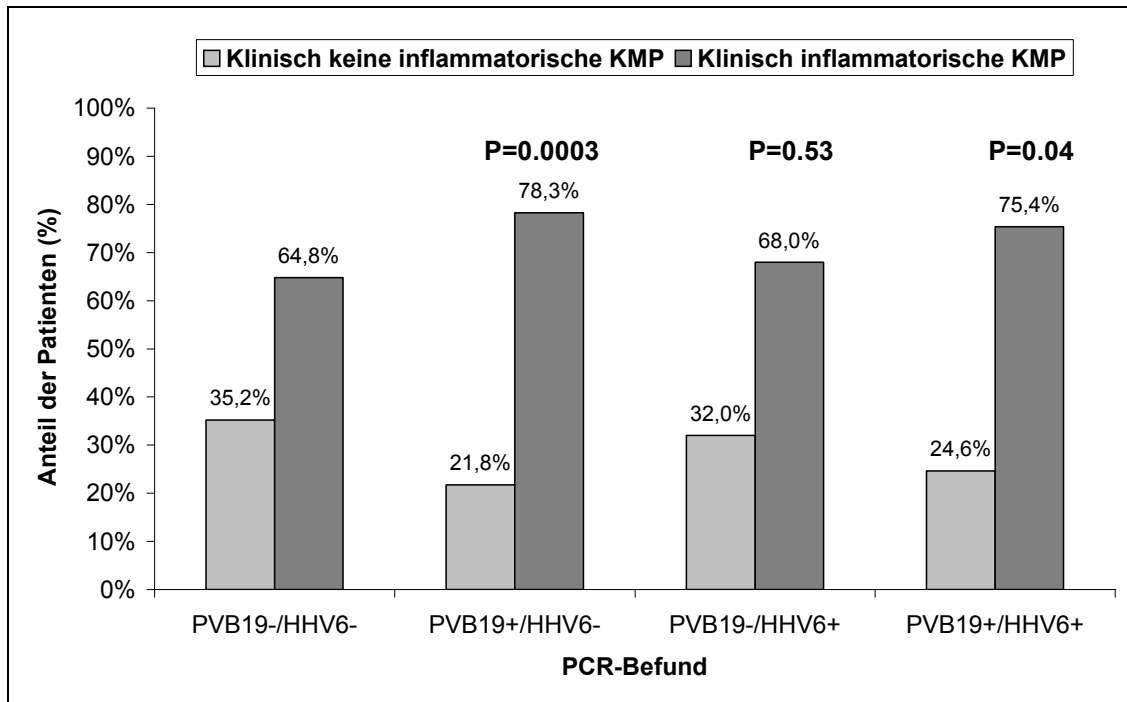
Tabelle 14: Übersicht. Anzahl (n) der Patienten bei denen die Information zur klinischen Diagnose vorlag. Absoluter und relativer Anteil der Patienten ohne (nein) oder mit (ja) klinischer Diagnose einer inflammatorischen Kardiomyopathie.

Diagnosegruppe	n	klinische Anhaltspunkte für eine inflammatorische Kardiomyopathie			
		nein		ja	
Normalbefund	122	37	30.3%	85	69.7%
akute Myokarditis	12			12	100.0%
borderline Myokarditis	425	73	17.2%	352	82.8%
DCM	516	160	31.0%	356	69.0%
sonstige Kardiomyopathien	267	131	49.1%	136	50.9%
Gesamtanzahl	1342	401	29.9%	941	70.1%

3.5.2 Klinische Diagnose bei Virusnachweis

Patienten, bei welchen eine Infektion im Myokard ausgeschlossen wurde, zeigten in 64.8% (456/704) der Fälle das klinische Bild einer inflammatorischen Kardiomyopathie. Bei Patienten mit Nachweis nur von PVB19 konnte demgegenüber eine überzufällige Häufung festgestellt werden ($P=0.0001$, nach Adjustierung $P=0.0003$). Der Anteil erhöhte sich hier auf 78.3% (313/400). Auch bei Patienten mit Nachweis einer Doppelinfektion konnte eine überzufällige, jedoch geringer ausgeprägte Häufung festgestellt werden ($P=0.02$, nach Adjustierung $P=0.04$). Der Anteil erhöhte sich hier auf 75.4% (104/138). Bei Patienten mit Nachweis nur von HHV6 ergab sich hingegen keine signifikante Häufung der klinischen Diagnose einer inflammatorischen Kardiomyopathie ($P=0.53$, nach Adjustierung $P=0.53$). Der Anteil betrug hier 68.0% (68/100). Die Abbildung 22 zeigt eine Übersicht über den relativen Anteil der klinischen Diagnose einer inflammatorischen Kardiomyopathie in Abhängigkeit vom PCR-Befund.

Abbildung 22: Anteil der Patienten mit der klinischen Diagnose inflammatorische Kardiomyopathie (KMP) in Abhängigkeit vom PCR-Befund. Adjustierte P-Werte beim Vergleich mit den Patienten mit Ausschluss von PVB19 und HHV6 (PVB19-/HHV6-).



Die Beurteilung der Häufigkeit der klinischen Diagnose innerhalb der Diagnosegruppen nach PCR-Befund zeigte einen Einfluss von PVB19 in Form eines jeweils höheren Anteils der Patienten mit Präsentation des klinischen Krankheitsbildes als inflammatorische Kardiomyopathie. Am deutlichsten zeigte sich dies bei Patienten mit histologischem Normalbefund. Die Patienten mit Ausschluss einer Infektion zeigten in 64,4% das klinische Bild einer inflammatorischen Kardiomyopathie. Der Anteil erhöhte sich auf 84,8% bei Nachweis nur von PVB19 ($P=0.039$, nach Adjustierung $P=0.117$) und auf 75,0% bei Nachweis einer Doppelinfektion.

Der Nachweis von HHV6 zeigte innerhalb der Diagnosegruppen anteilmäßig nur einen geringen Einfluss auf die klinische Diagnose, der statistisch nicht signifikant war. Der molekularpathologische Nachweis einer Doppelinfektion Myokard führte nicht häufiger zur klinischen Diagnose einer inflammatorischen Kardiomyopathie als bei Patienten mit Nachweis nur von PVB19. Der Effekt war im Gegenteil geringer ausgeprägt, jedoch

deutlich höher als bei Patienten mit Ausschluss einer Infektion. Die Tabelle 15 zeigt den absoluten und relativen Anteil der klinischen Diagnose einer inflammatorischen Kardiomyopathie nach Diagnosegruppen in Abhängigkeit vom PCR-Befund.

Tabelle 15: Anteil der Patienten mit der klinischen Diagnose einer inflammatorischen Kardiomyopathie nach Diagnosegruppen in Abhängigkeit vom PCR-Befund.

Diagnosegruppe	Anteil der Patienten mit der klinischen Diagnose inflammatorische Kardiomyopathie			
	PVB19-/HHV6-	PVB19+/HHV6-	PVB19-/HHV6+	PVB19+/HHV6+
akute Myokarditis	6/6 (100.0%)	3/3 (100.0%)	1/1 (100.0%)	2/2 (100.0%)
borderline Myokarditis	123/152 (80.9%)	160/191 (83.8%)	17/21 (81.0%)	52/61 (85.2%)
DCM	185/276 (67.0%)	101/138 (73.2%)	35/51 (68.6%)	35/51 (68.6%)
Normalbefund	47/73 (64.4%)	28/33 (84.8%) ¹⁾	4/8 (50.0%)	6/8 (75.0%)
sonstige Kardiomyopathien	95/197 (48.2%)	21/35 (60%)	11/19 (57.9%)	9/16 (56.3%)

¹⁾ P=0.039, nach Adjustierung P=0.117 (Vergleich mit PVB19-/HHV6-)

3.6 KLINISCHE PARAMETER

Untersucht wurden Daten bezüglich der Dauer des klinischen Krankheitsverlaufs, dem Grad der Herzinsuffizienz entsprechend der NYHA-Klassifikation und der Ejektionsfraktion. Untersucht wurde die Verteilung der Daten im Patientenkollektiv sowie in Abhängigkeit vom PCR-Befund.¹⁸

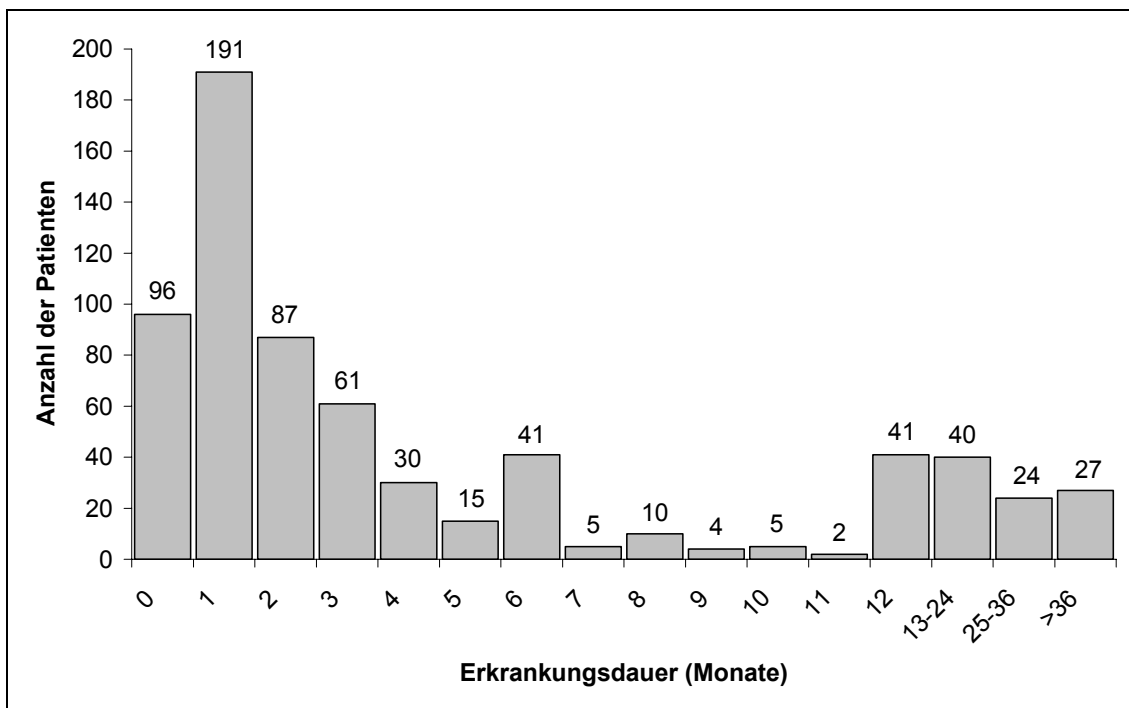
¹⁸ Vgl. Kap. 2.7.2

3.6.1 Erkrankungsdauer

3.6.1.1 Erkrankungsdauer im Patientenkollektiv

Die Erkrankungsdauer war bei 679 (49.9%) Patienten bekannt. Entsprechend der festgelegten Definition wurden die Erkrankungsdauern auf volle Monate gerundet.¹⁹ Der Median der Erkrankungsdauer im Patientenkollektiv betrug 2 Monate (0-252 Monate). Eine Häufung war bei Patienten mit einer Erkrankungsdauer von bis zu 14 Tagen (0 Monate) in 14.1% sowie bei Patienten mit einer Erkrankungsdauer von einem Monat in 28.1% der Fälle zu verzeichnen. Die Abbildung 23 stellt die Verteilung der vor der bioptischen Untersuchung bestehenden Erkrankungsdauer im Patientenkollektiv dar.

Abbildung 23: Übersicht. Erkrankungsdauer im Patientenkollektiv in Monaten. Anzahl der Patienten nach Erkrankungsdauer.



¹⁹ Vgl. Kap. 2.7.2.1

Der Median der Erkrankungsdauer bis zur bioptischen Untersuchung betrug bei akuter Myokarditis einen Monat, bei Patienten mit borderline Myokarditis, DCM sowie histologischem Normalbefund 2 Monate und bei Patienten der Gruppe sonstige Kardiomyopathien 3 Monate. Die Tabelle 16 gibt eine Übersicht über den Median der Erkrankungsdauer nach Diagnosegruppen im Patientenkollektiv.

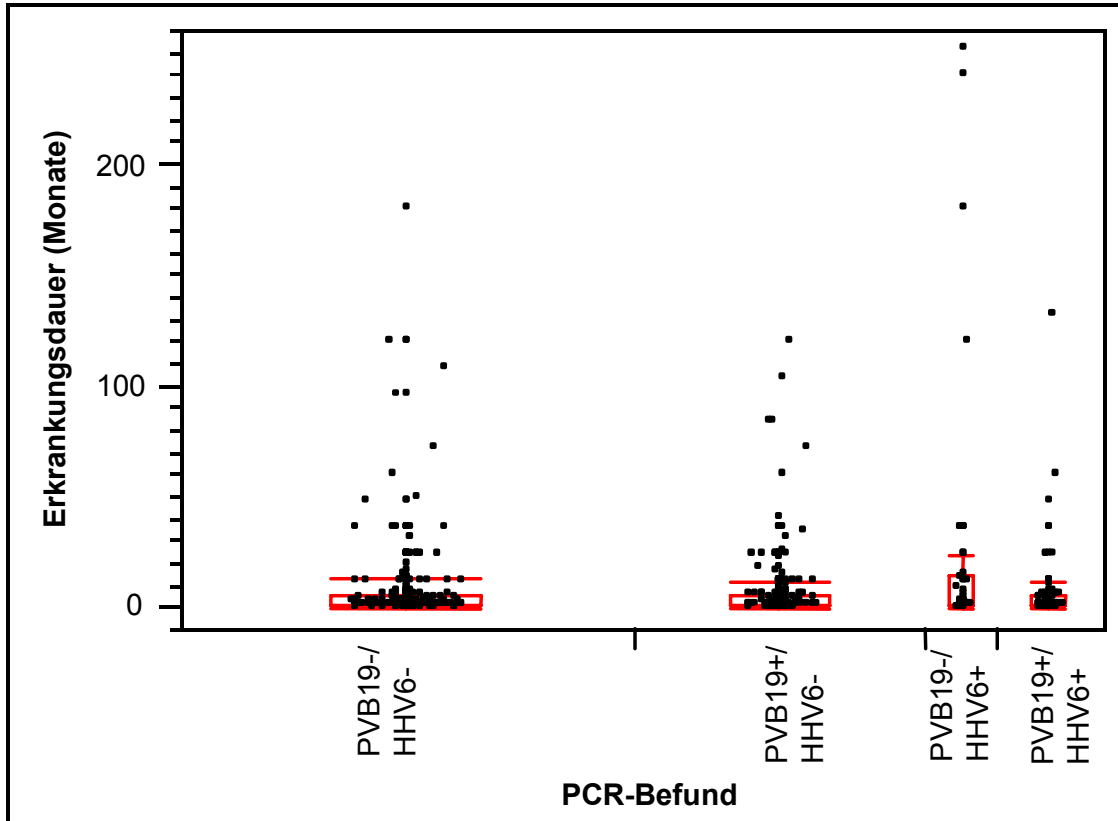
Tabelle 16: Übersicht. Erkrankungsdauer im Patientenkollektiv nach Diagnosegruppen sowie Anzahl (n) der Patienten bei denen die klinische Information bezüglich der Erkrankungsdauer vorlag.

Diagnosegruppe	n	Median der Erkrankungsdauer (min-max) [Monate]
akute Myokarditis	7	1 (0-1)
borderline Myokarditis	228	2 (0-132)
DCM	241	2 (0-252)
Normalbefund	62	2 (0-96)
sonstige Kardiomyopathien	141	3 (0-180)

3.6.1.2 Erkrankungsdauer bei Virusnachweis

Der Median der Erkrankungsdauer betrug bei Patienten mit Ausschluss einer Infektion 2 Monate (0-180). Bei Nachweis nur von PVB19 oder nur von HHV6 sowie bei Nachweis einer Doppelinfektion konnte ebenfalls eine Erkrankungsdauer von 2 Monaten festgestellt werden. Minimum und Maximum der Erkrankungsdauer lagen bei Patienten mit Nachweis nur von PVB19 bei 0 und 180 Monaten, bei Nachweis nur von HHV6 bei 0 und 252 Monaten und bei Nachweis einer Doppelinfektion bei 0 und 132 Monaten. Die Abbildung 24 zeigt die Verteilung der Einzelwerte der Erkrankungsdauer nach PCR-Befund.

Abbildung 24: Erkrankungsdauer in Abhängigkeit vom PCR-Befund. Verteilung der Einzelwerte.



Auch bei der deskriptiven Auswertung der Erkrankungsdauer nach Diagnosegruppen in Abhängigkeit vom PCR-Befund ergaben sich in dieser Stichprobe keine Hinweise dafür, dass eine Infektion mit PVB19 oder HHV6 mit einer kürzeren Erkrankungsdauer assoziiert ist. In den Diagnosegruppen akute Myokarditis sowie borderline Myokarditis war die vor der Biopsie bestehende Erkrankungsdauer erwartungsgemäß kürzer als bei Patienten der Gruppen DCM und sonstige Kardiomyopathien. In der Gruppe mit histologischem Normalbefund wurde ebenfalls eine gegenüber den Patienten mit inflammatorischer Kardiomyopathie relativ längere Erkrankungsdauer festgestellt. Ausnahme bildeten hier die Patienten mit Nachweis nur von PVB19 bei denen der Median der Erkrankungsdauer bei histologischem Normalbefund nur einen Monat betrug. Die Tabelle 17 gibt eine Übersicht über den Median der Erkrankungsdauer nach Diagnosegruppen in Abhängigkeit vom PCR-Befund.

Tabelle 17: Erkrankungsdauer nach Diagnosegruppen in Abhängigkeit vom PCR-Befund sowie Anzahl (n) der Patienten, bei denen die klinische Information bezüglich der Erkrankungsdauer vorlag.

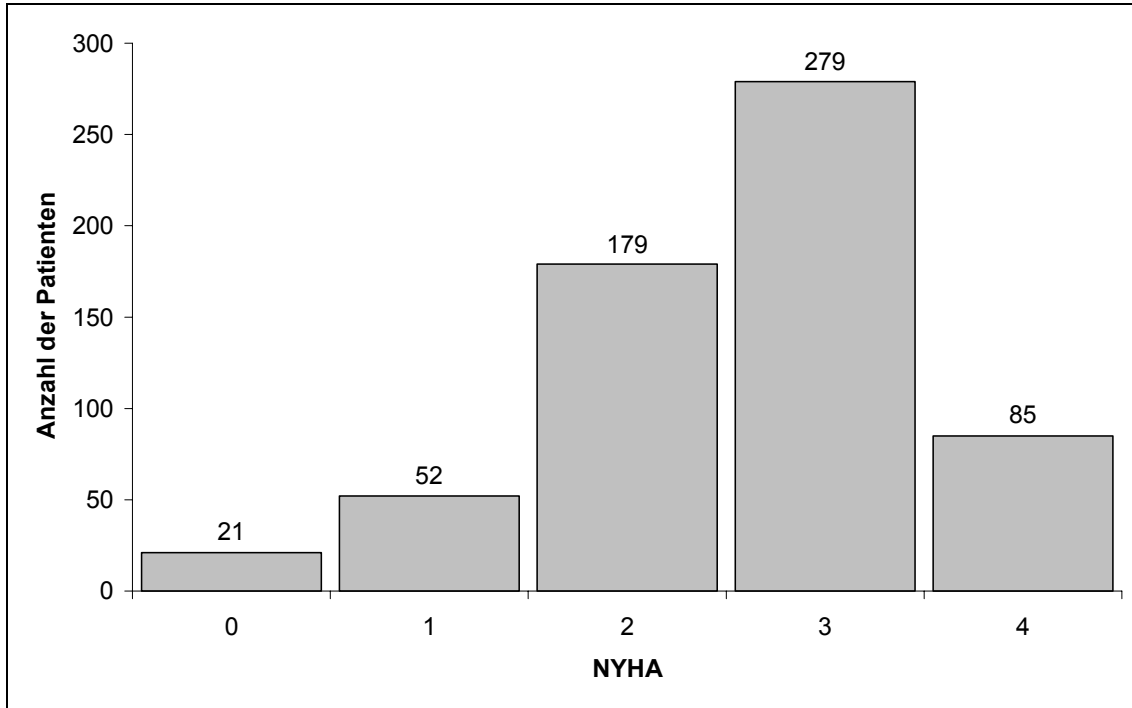
Diagnosegruppe	Anzahl (n) Median der Erkrankungsdauer (min-max) [Monate]			
	PVB19-/ HHV6-	PVB19+/ HHV6-	PVB19-/ HHV6+	PVB19+/ HHV6+
akute Myokarditis	3 0 (0-1)	4 1 (1-1)	1 (0)	1 (1)
borderline Myokarditis	87 1 (0-36)	104 2 (0-120)	9 1 (0-12)	36 2 (0-132)
DCM	146 2 (0-120)	74 3 (0-72)	27 2 (1-252)	26 3.5 (0-60)
Normalbefund	35 3 (0-96)	17 1 (0-24)	6 9.5 (1-36)	5 3 (0-12)
sonstige Kardiomyopathien	64 3 (0-180)	16 4.5 (0-84)	9 6 (0-36)	9 3 (0-24)

3.6.2 NYHA

3.6.2.1 NYHA im Patientenkollektiv

Daten zum Grad der Herzinsuffizienz lagen von 616 (45.2%) Patienten zur Auswertung vor. Im Patientenkollektiv wurde der Grad 0 bei 3.4%, der Grad 1 bei 8.4%, der Grad 2 bei 29.1%, der Grad 3 bei 45.3% und der Grad 4 bei 13.8% der Patienten festgestellt. Die Abbildung 25 zeigt eine Übersicht über die Verteilung der NYHA-Grade im Patientenkollektiv.

Abbildung 25: Übersicht: Verteilung der NYHA-Grade im Patientenkollektiv.



3.6.2.2 NYHA bei Virusnachweis

Die Verteilung der NYHA-Grade in Abhängigkeit vom PCR-Befund im Myokard wies in dieser Stichprobe keine Unterschiede bezüglich des Medians auf. Der Median entsprach bei Patienten mit Ausschluss einer Infektion sowie bei Patienten mit Nachweis nur von PVB19, nur HHV6 oder einer Doppelinfektion einem Grad 3 nach NYHA. Als Auffälligkeit stellte sich bei jedoch kleiner Fallzahl dar, dass die Herzinsuffizienz bei Patienten mit Nachweis nur von HHV6 häufiger höhergradig eingestuft wurde. Die Abbildung 26 und die Tabelle 18 veranschaulichen die Verteilung der NYHA-Grade in Abhängigkeit vom PCR-Befund.

Abbildung 26: Mosaikplot. Verteilung der NYHA-Grade in Abhängigkeit vom PCR-Befund.

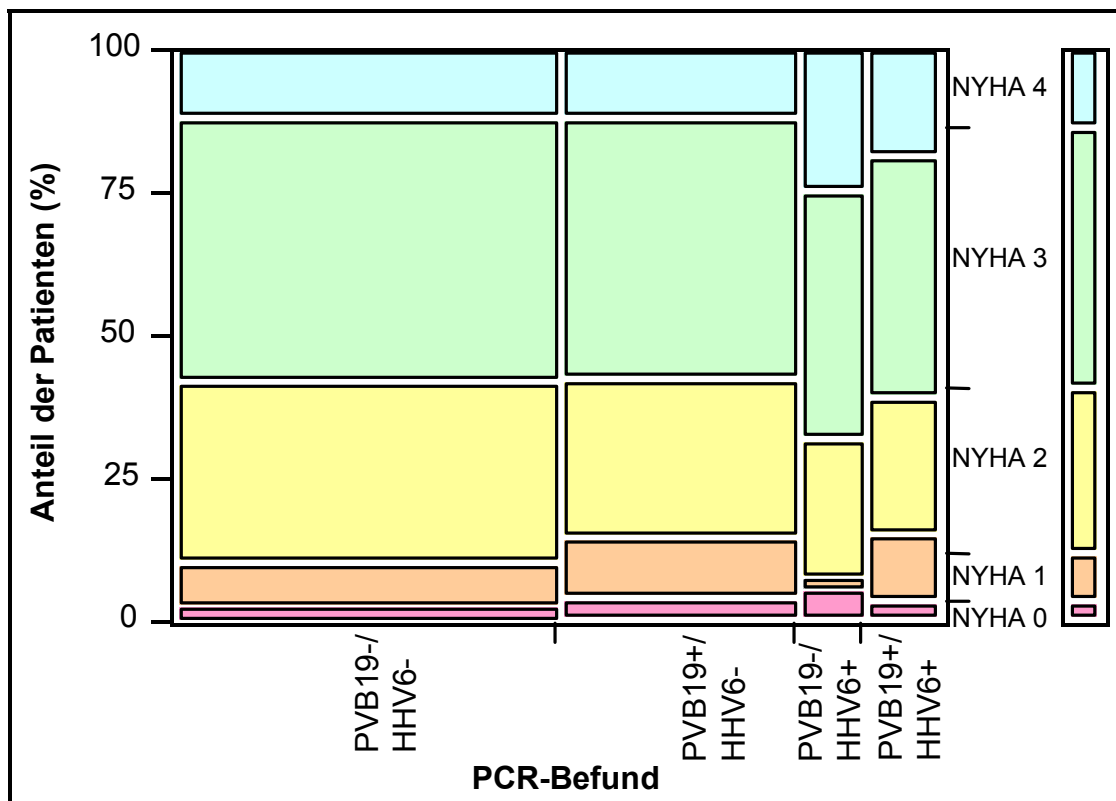


Tabelle 18: Verteilung der NYHA-Grade nach PCR-Befund. Absoluter und relativer Anteil der NYHA-Grade sowie Anzahl (n) der Patienten, bei denen die klinische Information bezüglich des Grades der Herzinsuffizienz vorlag.

PCR-Befund Biopsie	n	NYHA-Grad				
		0	1	2	3	4
PVB19-/ HHV6-	311	8 (2.6%)	24 (7.7%)	98 (31.5%)	143 (46.0%)	38 (12.2%)
PVB19+/ HHV6-	193	8 (4.1%)	20 (10.4%)	54 (28.0%)	88 (45.6%)	23 (11.9%)
PVB19-/ HHV6+	53	3 (5.7%)	1 (1.9%)	13 (24.5%)	23 (43.4%)	13 (24.5%)
PVB19+/ HHV6+	59	2 (3.4%)	7 (11.9%)	14 (23.7%)	25 (42.4%)	11 (18.6%)

Zur Vervollständigung der Auswertung wurden die NYHA Werte auch nach Diagnosegruppen in Abhängigkeit vom PCR-Befund untersucht. Dabei verkleinerte sich die Fallzahl in den einzelnen Gruppen jedoch weiter. Es waren keine Unterschiede und auch kein Trend zu erkennen. Bei Patienten mit borderline Myokarditis betrug der Median des NYHA-Grades weiterhin 3, unabhängig vom PCR-Befund. Bei Patienten mit sonstigen Kardiomyopathien konnte ebenfalls ein Median des NYHA-Grades von 3 festgestellt werden, mit Ausnahme von Patienten mit Doppelinfektionen, bei denen er 2 betrug. Patienten der Gruppe mit Normalbefund wiesen einen Median des NYHA-Grades von 2 auf, mit Ausnahme der Patienten mit Doppelinfektion bei denen er 3 betrug. Von Patienten mit akuter Myokarditis waren insgesamt nur 3 klinische Werte bekannt. Ein Patient mit Ausschluss einer Infektion wies einen NYHA-Grad von 4, ein Patient mit Nachweis nur von PVB19 einen Grad von 1 und ein Patient mit Nachweis einer Doppelinfektion einen Grad von 2 auf. Die Tabelle 19 stellt den Median des NYHA-Grades nach Diagnosegruppe in Abhängigkeit vom PCR-Befund dar und gibt die Anzahl der jeweils verfügbaren klinischen Informationen wieder.

Tabelle 19: Verteilung der NYHA-Grade nach Diagnosegruppen in Abhängigkeit vom PCR-Befund. Median des NYHA-Grades (min-max) sowie Anzahl (n) der Patienten, bei denen die klinische Information bezüglich des Grades der Herzinsuffizienz vorlag.

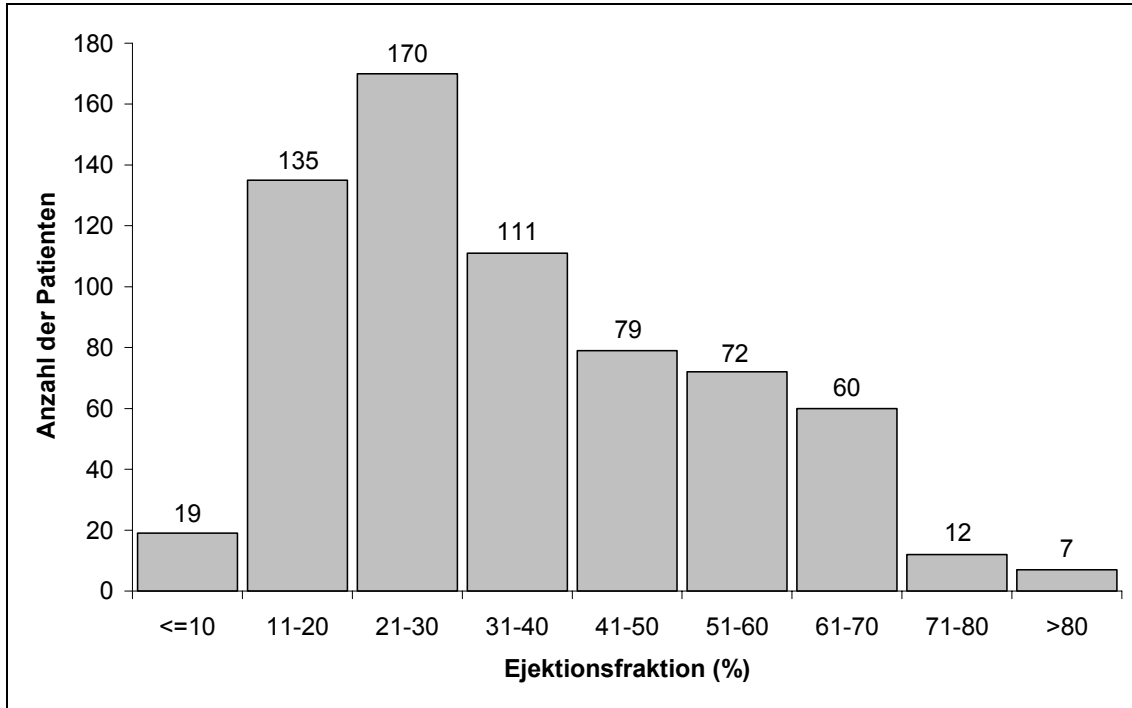
Diagnosegruppe	Anzahl (n) Median des NYHA-Grades (min-max) [Monate]			
	PVB19-/ HHV6-	PVB19+/ HHV6-	PVB19-/ HHV6+	PVB19+/ HHV6+
akute Myokarditis	1 (4)	1 (1)	-	1 (2)
borderline Myokarditis	64 3 (0-4)	84 3 (0-4)	11 3 (0-4)	28 3 (0-4)
DCM	144 3 (1-4)	70 3 (0-4)	30 3 (2-4)	23 3 (1-4)
Normalbefund	31 2 (0-4)	20 2 (0-4)	6 2 (0-4)	3 3 (1-4)
sonstige Kardiomyopathien	71 3 (0-4)	18 3 (1-4)	6 3 (0-3)	4 2 (0-4)

3.6.3 Ejektionsfraktion

3.6.3.1 Ejektionsfraktion im Patientenkollektiv

Informationen zur Ejektionsfraktion (EF) der Patienten zum Zeitpunkt der Biopsie lagen von 665 (48.8%) Patienten zur Auswertung vor. Der Median der EF im Patientenkollektiv betrug zum Zeitpunkt der Biopsie 37% (6%-93%) was einer deutlich eingeschränkten Pumpfunktion entspricht. Insgesamt konnte bei 468 (69.1%) Patienten eine EF von weniger als 45% festgestellt werden. Die Abbildung 27 gibt eine Übersicht über die Verteilung der EF-Werte im Patientenkollektiv.

Abbildung 27: Übersicht. Verteilung der EF-Werte im Patientenkollektiv.



Im weiteren erfolgte die Darstellung der EF-Werte des Patientenkollektivs als Median bezogen auf die Diagnosegruppe. Der Median der EF war bei Patienten der Gruppe DCMP mit 25% (6-90%) erwartungsgemäß am geringsten. Patienten mit borderline Myokarditis wiesen einen Median der EF von 35% (10-93%) auf. Bei Patienten mit akuter Myokarditis konnte ein Median der EF von 40% (17-61%) festgestellt werden. Patienten mit histologischem Normalbefund und sonstigen Kardiomyopathien hatten gleichermaßen einen Median der EF von 40% (8-80% bzw. 7-85%). Die Tabelle 20 stellt den Median der EF nach Diagnosegruppen mit den zugehörigen Minimum- und Maximumwerten sowie die Anzahl der verfügbaren klinischen Informationen im Patientenkollektiv dar.

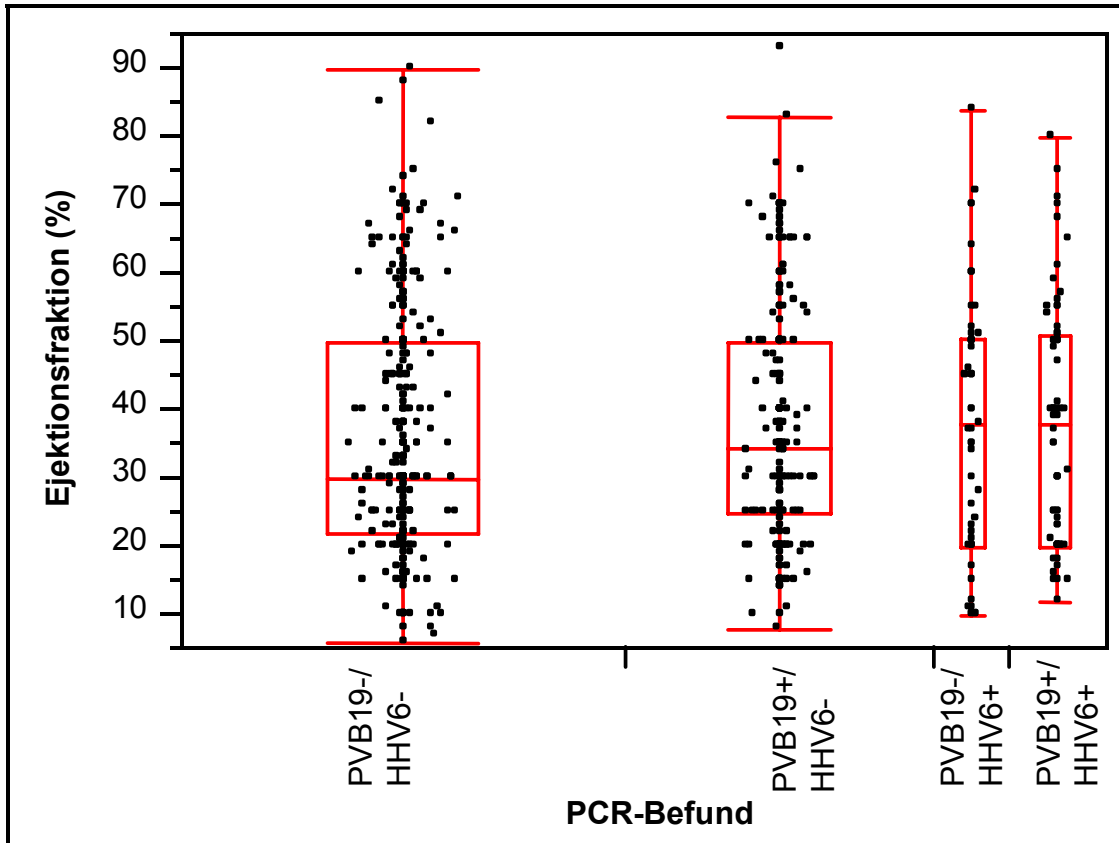
Tabelle 20: Übersicht: EF nach Diagnosegruppen im Patientenkollektiv sowie Anzahl (n) der Patienten, bei denen die klinische Information bezüglich der EF vorlag.

Diagnosegruppe	n	Median der EF (min-max) [%]
akute Myokarditis	7	40 (17-61)
borderline Myokarditis	207	35 (10-93)
DCM	250	25 (6-90)
Normalbefund	66	49 (8-80)
sonstige Kardiomyopathien	135	49 (7-85)

3.6.3.2 Ejektionsfraktion bei Virusnachweis

Der Median der Ejektionsfraktion konnte bei Patienten mit Ausschluss einer Infektion mit 30% (6-90%) festgestellt werden und lag damit unter dem Median der EF des Patientenkollektivs. Patienten mit Nachweis nur von PVB19 wiesen einen Median der EF von 34.5% (8-65%) auf, der somit ebenfalls unter dem des Patientenkollektivs lag, jedoch höher als bei Ausschluss einer Infektion war. Patienten mit Nachweis nur von HHV6 sowie einer Doppelinfektion wiesen gleichermaßen einen Median der EF von 38% (10-84% bzw. 12-80%) auf. Eine Einschränkung der EF bei Nachweis von PVB19 oder HHV6 konnte somit in dieser Stichprobe nicht aufgezeigt werden. Die Abbildung 28 zeigt die Verteilung der Einzelwerte nach PCR-Befund.

Abbildung 28: Ejektionsfraktion in Abhängigkeit vom PCR-Befund. Verteilung der Einzelwerte.



Innerhalb der Diagnosegruppen ergaben sich in Abhängigkeit vom PCR-Befund nur geringe, nicht überzufällige Schwankungen. Patienten mit sonstigen Kardiomyopathien und Patienten mit histologischem Normalbefund wiesen erwartungsgemäß höhere EF-Werte auf. Patienten mit einer DCM hatten im Kollektiv die geringsten EF-Werte. Auffällig hoch zeigte sich der Median der EF bei Patienten mit DCM und Nachweis nur von HHV6 mit einem Median von 50%. Die Tabelle 21 gibt eine Übersicht über den Median der Ejektionsfraktion nach Diagnosegruppen in Abhängigkeit vom PCR-Befund.

Tabelle 21: Ejektionsfraktion nach Diagnosegruppen in Abhängigkeit vom PCR-Befund sowie Anzahl (n) der Patienten, bei denen die klinische Information bezüglich der EF vorlag.

Diagnosegruppe	Anzahl (n) Median der Ejektionsfraktion (min-max) [%]			
	PVB19-/ HHV6-	PVB19+/ HHV6-	PVB19-/ HHV6+	PVB19+/ HHV6+
akute Myokarditis	3 30 (17-56)	3 40 (30-61)	-	1 (40)
borderline Myokarditis	75 30 (10-70)	100 35 (10-93)	10 50 (20-60)	30 38.5 (15-75)
DCM	137 25 (6-90)	76 27 (11-70)	26 21.5 (10-64)	27 24 (12-55)
Normalbefund	29 45 (10-74)	22 50 (8-76)	6 45.5 (30-70)	3 50 (20-80)
sonstige Kardiomyopathien	80 47.5 (7-85)	21 45 (15-70)	11 50 (20-84)	7 57 (39-71)

3.7 PRÄVALENZ VON PVB19 UND HHV6 IM PERIPHEREN BLUT

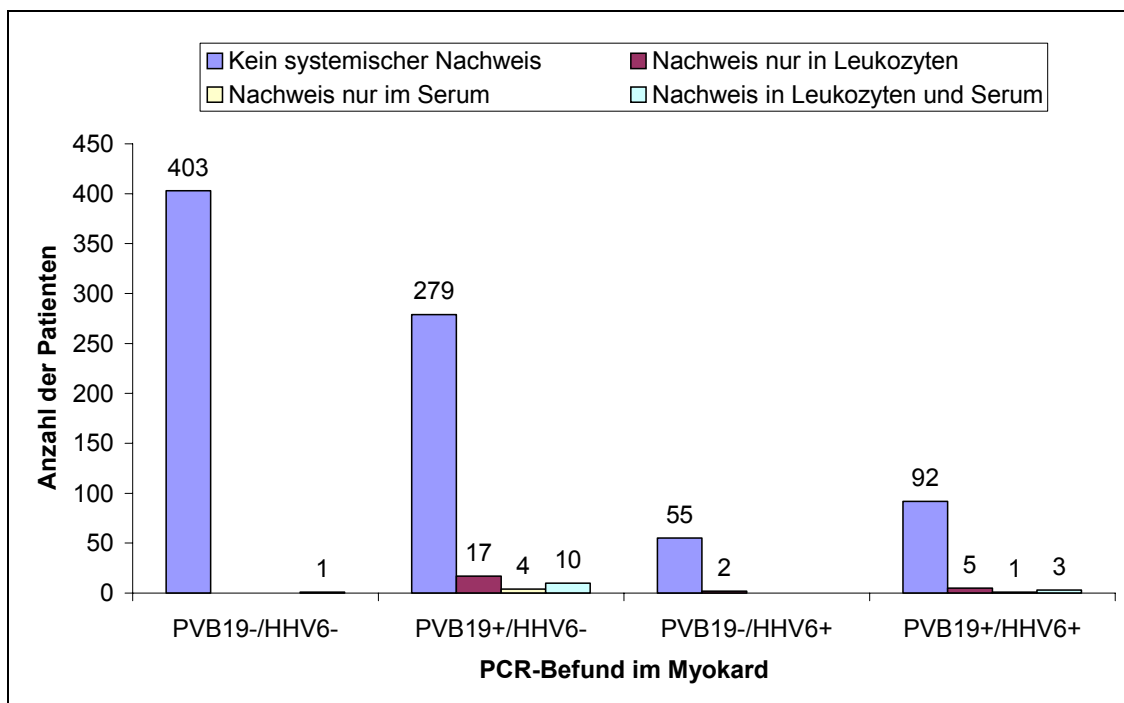
Eine PCR-Untersuchung des peripheren Blutes, zum Nachweis oder Ausschluss einer systemischen Infektion, konnte bei 872 (64.0%) Patienten auf PVB19, sowie bei 801 (58.8%) Patienten auf HHV6, anhand von zeitgleich mit der Biopsie eingesandten EDTA-Blutproben erfolgen.

3.7.1 Systemischer Nachweis von PVB19

PVB19 konnte im peripheren Blut von 43 (4.9%) Patienten nachgewiesen werden. Der Nachweis erfolgte hierbei in 24 (2.8%) dieser Fälle nur in den Leukozyten, in 5 (0.6%) Fällen nur im Serum und in 14 (1.6%) Fällen in beiden Kompartimenten des Blutes. Ein Nachweis viraler DNA im Serum als Indikator einer Virämie konnte somit bei 2.2% der

Patienten festgestellt werden. Bei Patienten, bei denen PVB19 im Myokard nicht nachgewiesen wurde (n=461), entsprechend den Patienten mit Ausschluss einer Infektion oder Nachweis nur von HHV6 im Myokard, konnte PVB19 nur in 0.7% (3/461) der Fälle im Blut nachgewiesen werden. Bei einem Patienten ohne Nachweis viraler Genome im Myokard konnte hierbei PVB19 in beiden Kompartimenten des Blutes, bei zwei Patienten mit Nachweis nur von HHV6 in der Endomyokardbiopsie nur in den Leukozyten nachgewiesen werden. Bei Patienten, bei denen der Nachweis von PVB19 bereits im Myokard gelang (n=411), konnte PVB19 in 40/411 (9.7%) Fällen auch im Blut nachgewiesen werden. Diese verteilten sich auf 10.0% (31/310) der Patienten mit Nachweis nur von PVB19 und bei 8.9% (9/101) der Patienten mit einer Doppelinfektion des Myokards. Der Nachweis gelang bei Patienten mit Nachweis nur von PVB19 im Myokard in 17 (5.5%) Fällen nur in den Leukozyten, in 4 (1.3%) Fällen nur im Serum sowie in 10 (3.2%) Fällen in beiden Kompartimenten des Blutes. Bei Patienten mit Doppelinfektion im Myokard konnte PVB19 in 5 (5.0%) Fällen nur in den Leukozyten, in 1 (1.0%) Fall nur im Serum und in 3 (3.0%) Fällen in beiden Kompartimenten des Blutes nachgewiesen werden. Eine Virämie konnte demzufolge bei 4.4% der Patienten mit Nachweis von PVB19 in der Endomyokardbiopsie festgestellt werden. Die Abbildung 29 gibt eine Übersicht über die Ergebnisse der PCR-Untersuchung des peripheren Blutes in Abhängigkeit des PCR-Befundes der Endomyokardbiopsie.

Abbildung 29: Systemischer Nachweis von PVB19 in 872 Blutproben in Abhängigkeit vom PCR-Befund der Endomyokardbiopsie.



Die Zuordnung der Ergebnisse der Blutanalysen zu den Diagnosegruppen konnte aufzeigen, dass die Prävalenz von PVB19 im Blut bei Patienten mit borderline Myokarditis und Nachweis von PVB19 im Myokard am größten war. Insgesamt konnte PVB19 bei 12.7% (22/173) dieser Patienten im Blut nachgewiesen werden. Der Nachweis erfolgte bei 10 (5.9%) Patienten nur in den Leukozyten, bei 3 (1.7%) Patienten nur im Serum sowie bei 9 (5.2%) Patienten in beiden Kompartimenten des Blutes. Eine Virämie mit Nachweis viraler DNA im Serum konnte somit bei 6.9% dieser Patienten nachgewiesen werden. Die 3 einzigen Fälle in denen PVB19 im Blut ohne gleichzeitigen Nachweis im Myokard gefunden wurde, waren ebenfalls Patienten mit borderline Myokarditis zuzuordnen. In 2 (1.8%) der Fälle erfolgte der Nachweis nur in den Leukozyten in 1 (0.9%) Fall in beiden Kompartimenten des Blutes. Bei 2 von 3 Patienten mit akuter Myokarditis und Nachweis von PVB19 im Myokard konnte PVB19 auch im peripheren Blut gefunden werden. Bei einem Patienten konnte PVB19 nur in den Leukozyten, beim Zweiten in beiden Kompartimenten des Blutes nachgewiesen werden. Bei 6.2% (8/129) der Patienten mit DCM und Nachweis von PVB19 im Myokard war ein Nachweis auch im Blut möglich. Keiner der Patienten zeigte jedoch eine entzündliche Begleitreaktion.

Blut möglich. Keiner der Patienten zeigte jedoch eine entzündliche Begleitreaktion. PVB19 wurde hier bei 3 (2.3%) Patienten nur in den Leukozyten, bei 2 (1.6%) Patienten nur im Serum und bei 3 (2.3%) Patienten in beiden Kompartimenten des Blutes nachgewiesen. PVB19 konnte auch bei 10.0% (3/30) der Patienten mit histologischem Normalbefund und 13.8% (5/36) der Patienten mit sonstigen Kardiomyopathien, allerdings nur in den Leukozyten und bei bereits positivem Nachweis von PVB19 in der Endomyokardbiopsie, nachgewiesen werden. Die Tabelle 22 zeigt eine Übersicht über den Nachweis von PVB19 im peripheren Blut nach Diagnosegruppen in Abhängigkeit von Ausschluss oder Nachweis von PVB19 in der Endomyokardbiopsie.

Tabelle 22: PCR-Befunde der Blutanalyse nach Diagnosegruppen in Abhängigkeit von Ausschluss oder Nachweis von PVB19 in der Endomyokardbiopsie sowie Anzahl (n) der untersuchten Proben.

Diagnosegruppe	PCR-Befund Biopsie ^{*)}	Untersuchte Blutproben n	Anzahl positiver PVB19-Nachweise in den Blutkompartimenten		
			nur in Leukozyten	nur im Serum	Leukozyten und Serum
akute Myokarditis	PVB19-	3	-	-	-
	PVB19+	3	1	-	1
borderline Myokarditis	PVB19-	110	2	-	1
	PVB19+	173	10	3	9
DCM	PVB19-	175	-	-	-
	PVB19+	129	3	2	3
Normalbefund	PVB19-	57	-	-	-
	PVB19+	30	3	-	-
sonstige Kardiomyopathien	PVB19-	113	-	-	-
	PVB19+	36	5	-	-

^{*)} PVB19-: Patienten ohne Nachweis von PVB19 im Myokard, entsprechend den Gruppen PVB19-/HHV6- und PVB19-/HHV6+

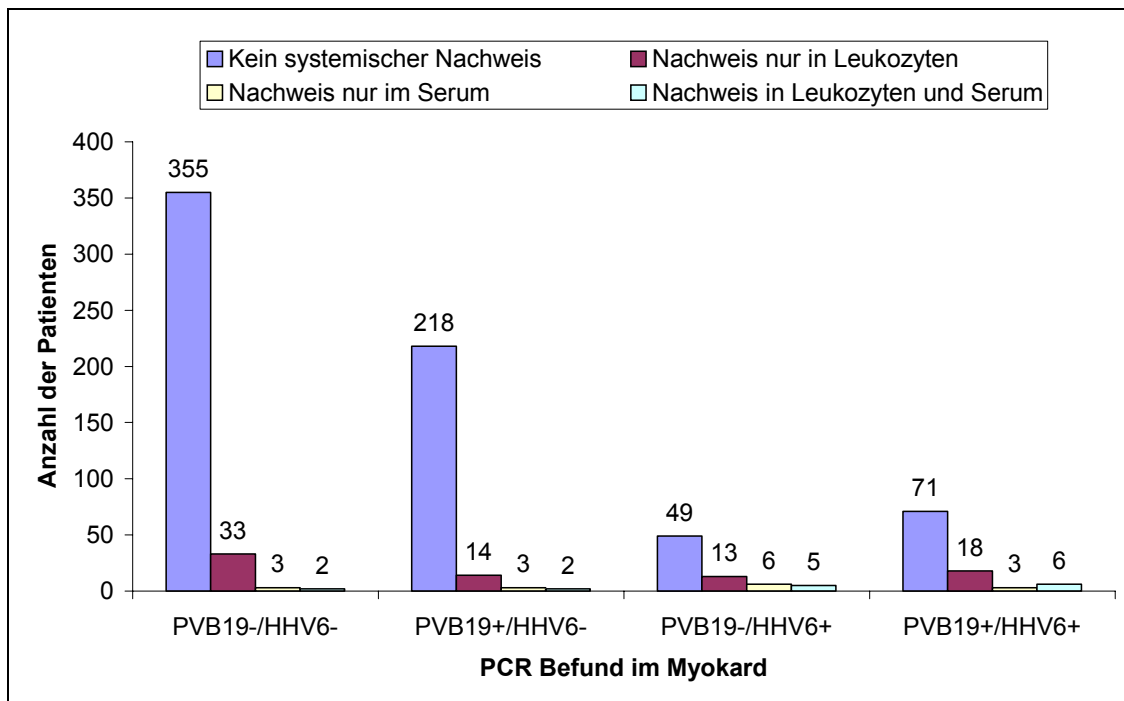
PVB19+: Patienten mit Nachweis von PVB19 im Myokard, entsprechend den Gruppen PVB19+/HHV6- und PVB19+/HHV6+

3.7.2 Systemischer Nachweis von HHV6

HHV6 konnte im peripheren Blut von 108 (13.5%) Patienten nachgewiesen werden. Die Prävalenz war damit fast um den Faktor 3 größer als bei PVB19. Der Nachweis von HHV6 erfolgte bei 78 (9.7%) Patienten nur in den Leukozyten, bei jeweils 15 (1.9%) Patienten nur im Serum und in beiden Kompartimenten des Blutes. Eine Virämie konnte somit insgesamt bei 3.8% der Patienten festgestellt werden. Bei Patienten, bei denen

HHV6 im Myokard nicht nachgewiesen werden konnte, entsprechend den Patienten mit Ausschluss einer Infektion oder Nachweis nur von PVB19, konnte HHV6 in 9.0% (57/630) der Fälle im Blut nachgewiesen werden. Die Untersuchung ergab bei Patienten mit Ausschluss einer Infektion im Myokard den Nachweis von HHV6 bei 33 (8.4%) Patienten nur in den Leukozyten, bei 3 (0.8%) Patienten nur im Serum und bei 2 (0.5%) Patienten in beiden Kompartimenten des Blutes. Bei Patienten mit Nachweis nur von PVB19 im Myokard konnte HHV6 in 14 (5.9%) Fällen nur in den Leukozyten, in 3 (1.3%) Fällen nur im Serum sowie in 2 (0.8%) Fällen in beiden Kompartimenten des Blutes nachgewiesen werden. Bei Patienten, bei denen der Nachweis von HHV6 bereits im Myokard gelang, konnte HHV6 auch bei 29.8% (51/171) der Patienten im Blut nachgewiesen werden. Der Nachweis gelang bei Patienten mit Nachweis nur von HHV6 in 13 (17.8%) Fällen nur in den Leukozyten, in 6 (8.2%) Fällen nur im Serum sowie in 5 (6.8%) Fällen in beiden Kompartimenten des Blutes. Bei Patienten mit Doppelinfektion konnte HHV6 in 18 (18.4%) Fällen nur in den Leukozyten, in 3 (3.1%) Fällen nur im Serum und in 6 (6.1%) Fällen in beiden Kompartimenten nachgewiesen werden. Eine Virämie konnte insgesamt bei 11.7% (20/171) der Patienten mit Nachweis von HHV6 und in Gegensatz dazu nur bei 1.6% (10/630) der Patienten mit Ausschluss von HHV6 in der Endomyokardbiopsie festgestellt werden. Die Abbildung 30 gibt eine Übersicht über die Ergebnisse der PCR Untersuchung des peripheren Blutes auf HHV6 in Abhängigkeit vom PCR-Befund der Endomyokardbiopsie.

Abbildung 30: Systemischer Nachweis von HHV6 in 801 Blutproben in Abhängigkeit vom PCR-Befund der Endomyokardbiopsie.



Die Zuordnung der Blutbefunde zu den Diagnosegruppen deckte bei Patienten mit borderline Myokarditis und DCM eine jeweils ähnliche Prävalenz von HHV6 im Blut auf. Diese war bei Patienten mit gleichzeitigem Nachweis von HHV6 im Myokard jeweils höher. Bei Patienten mit borderline Myokarditis und Nachweis von HHV6 in der Biopsie war HHV6 auch in 40.9% (18/44) der Fälle im Blut nachweisbar. Bei 13 (29.5%) Patienten erfolgte der Nachweis nur in den Leukozyten, bei 1 (2.3%) nur im Serum sowie bei 4 (9.1%) in beiden Kompartimenten des Blutes. Bei negativem Nachweis in der Biopsie war der Nachweis im Blut nur bei 8.8% (17/193) der Patienten, davon in 15 (7.8%) Fällen nur in den Leukozyten und in 2 (1.0%) Fällen nur im Serum möglich. Eine Virämie konnte daraus folgend bei 11.4% der Patienten mit borderline Myokarditis mit und bei 1.0% ohne Nachweis von HHV6 im Myokard gesichert werden. Patienten mit DCM und Nachweis von HHV6 im Myokard zeigten eine HHV6-Prävalenz von 40.0% (20/50) im Blut. Der Nachweis erfolgte bei 9 (18.0%) Patienten nur in den Leukozyten, bei 6 (12.0%) Patienten nur im Serum und bei 5 (10.0%) Patienten in beiden Kompartimenten des Blutes. DCM-Patienten mit Ausschluss von HHV6 im Myokard

wiesen eine HHV6-Prävalenz von 10.2% (20/193) im Blut auf. Bei 15 (7.8%) Patienten erfolgte der Nachweis nur in den Leukozyten, bei 2 (1.0%) nur im Serum und bei 3 (1.6%) in beiden Kompartimenten des Blutes. Keiner der DCM-Patienten mit Nachweis von HHV6 im peripheren Blut zeigte eine begleitende Entzündungsreaktion. Eine Virämie konnte dementsprechend bei 22.0% der Patienten mit DCM mit, und bei 2.5% ohne Nachweis von HHV6 im Myokard festgestellt werden. Bei keinem Patienten mit akuter Myokarditis konnte HHV6 im Blut nachgewiesen werden. Auch bei Patienten mit Normalbefund oder sonstigen Kardiomyopathien konnte eine jeweils höhere Prävalenz von HHV6 im Blut bei gleichzeitigem Nachweis in der Endomyokardbiopsie, bei jedoch kleiner Fallzahl, aufgezeigt werden. Dementsprechend zeigte sich bei Patienten mit Normalbefund und Nachweis von HHV6 in der Biopsie eine Prävalenz von 22.2%, welche sich auf einen Nachweis nur in Leukozyten sowie einen Nachweis nur im Serum verteilte. Patienten ohne Nachweis von HHV6 in der Biopsie zeigten eine Prävalenz im Blut von 11.4%, die sich auf 6 (8.6%) Nachweise nur in den Leukozyten, einen (1.4%) Nachweis nur im Serum sowie einen (1.4%) Nachweis in beiden Kompartimenten verteilte. Patienten mit sonstigen Kardiomyopathien und Nachweis von HHV6 in der Biopsie zeigten eine Prävalenz im Blut von 73.3%, die sich auf 8 (53.3%) Nachweise nur in Leukozyten, einen (6.7%) Nachweis nur im Serum, sowie 2 (13.3%) Nachweise in beiden Kompartimenten des Blutes verteilte. Bei Ausschluss von HHV6 in der Biopsie konnte hingegen eine Prävalenz im Blut von 11.1% festgestellt werden, die sich auf 11 (10.2%) Nachweise nur in Leukozyten und 1 (0.9%) Nachweis nur im Serum verteilte. Die Tabelle 23 zeigt eine Übersicht über den Nachweis von HHV6 im peripheren Blut nach Diagnosegruppen in Abhängigkeit von Ausschluss oder Nachweis von HHV6 in der Endomyokardbiopsie.

Tabelle 23: PCR-Befunde der Blutanalyse nach Diagnosegruppen in Abhängigkeit von Ausschluss oder Nachweis von HHV6 in der Endomyokardbiopsie sowie Anzahl (n) der untersuchten Proben.

Diagnosegruppe	PCR-Befund Biopsie ^{*)}	Untersuchte Blutproben n	Anzahl positiver HHV6-Nachweise in den Blutkompartimenten		
			nur in Leukozyten	nur im Serum	Leukozyten und Serum
akute Myokarditis	HHV6-	5	-	-	-
	HHV6+	2	-	-	-
borderline Myokarditis	HHV6-	193	15	2	-
	HHV6+	44	13	1	4
DCM	HHV6-	197	15	2	3
	HHV6+	50	9	6	5
Normalbefund	HHV6-	70	6	1	1
	HHV6+	9	1	1	-
sonstige Kardiomyopathien	HHV6-	108	11	1	-
	HHV6+	15	8	1	2

^{*)} HHV6-: Patienten ohne Nachweis von HHV6 im Myokard, entsprechend den Gruppen PVB19-/HHV6+ und PVB19+/HHV6+

HHV6+: Patienten mit Nachweis von HHV6 im Myokard, entsprechend den Gruppen PVB19-/HHV6+ und PVB19+/HHV6+

3.8 ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE

Die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- In dieser Stichprobe konnte die Prävalenz von PVB19 mit 39.8% (n=542) und die Prävalenz von HHV6 mit 17.8% (n=243) bestimmt werden. Die simultane Präsenz beider Erreger wies eine positive Korrelation auf und war bei 140 (10.3%) der Patienten festzustellen (OR 2.5, 95% KI 1.9-3.4).²⁰
- Der Median des Alters sowie der Anteil der Geschlechter zeigten keine überzufälligen Unterschiede bezüglich Nachweis oder Ausschluss der Erreger. Der Nachweis von PVB19 korrelierte jedoch signifikant mit der Altersgruppe über 10 Jahre (OR 2.3, 95% KI 1.5-3.8).²¹
- Eine inflammatorische Kardiomyopathie konnte bei 375/645 (58,1%) der Patienten mit positivem Nachweis von PVB19 und/oder HHV6 gefunden werden, entsprechend 260/402 (62.4%) Patienten mit Nachweis nur von PVB19, 37/103 (55.7%) Patienten mit Nachweis nur von HHV6 sowie 78/140 (55.7%) Patienten mit einer Doppelinfection. Die pathomorphologische Klassifikation der Entzündung ergab bei 7/375 (1.9%) Patienten eine akute Myokarditis und bei 276/375 (73.6%) Patienten eine borderline Myokarditis. Patienten mit DCM zeigten gegebenenfalls zusätzlich eine Entzündungsreaktion (DCMi). Dieser Gruppe konnten 81/375 (21.6%) Patienten zugeordnet werden. 11/375 (2.9%) Patienten zeigten eine Entzündungsreaktion auf dem Boden einer anderen, nicht virusassoziierten Kardiomyopathie. In der Kontrollgruppe konnte keine inflammatorische Kardiomyopathie festgestellt werden.²²

²⁰ Vgl. Kap. 3.2

²¹ Vgl. Kap. 3.3

²² Vgl. Kap. 3.4.1

- Die logistische Regression zeigte, dass der positive Nachweis von PVB19 im Patientenkollektiv, unabhängig von der kardialen Grunderkrankung, mit einem 1.7 fachen Risiko für eine inflammatorische Kardiomyopathie einhergeht (OR 1.7, 95% KI 1.2-2.4). Im Speziellen fand sich eine signifikante Korrelation mit der Diagnose einer borderline Myokarditis ($P < 0.0003$). Bei Patienten mit der histologischen Diagnose einer DCM war der Nachweis von PVB19 hochsignifikant mit dem Auftreten einer zusätzlichen Entzündung (DCMi) assoziiert ($P = 0.0003$). Beim Vergleich der Patienten mit kardialer Grunderkrankung gegenüber kardial gesunden Individuen der Kontrollgruppe erhöhte sich bezüglich PVB19 das Risiko für eine Myokarditis erheblich (OR 12.2, 95% KI 1.2-221.8).²³
- Der Nachweis von HHV6 korrelierte invers mit dem Auftreten einer Entzündungsreaktion im Myokard (OR 0.6, 95% KI 0.4-0.9). Eine Korrelation mit der Diagnose einer akuten oder borderline Myokarditis konnte nicht gefunden werden, jedoch konnte HHV6 auffällig häufig bei Patienten mit DCM nachgewiesen werden ($P = 0.041$, nach Adjustierung $P = 0.12$). Eine zusätzliche Entzündung konnte bei Patienten mit DCM und positivem HHV6-Nachweis jedoch nicht häufiger gefunden werden als bei Patienten mit Ausschluss einer Infektion. Patienten mit sonstigen Kardiomyopathien und positivem HHV6-Nachweis zeigten darüber hinaus auffällig seltener eine zusätzliche Entzündungsreaktion als Patienten mit Ausschluss einer Infektion ($P = 0.051$, nach Adjustierung 0.153). Beim Vergleich der Patienten mit Myokarditis und histologischem Normalbefund konnte ein erhöhtes Risiko bezüglich HHV6 gefunden werden (OR 2.1, 95% KI 1.1-4.7). Gegenüber der Kontrollgruppe ergaben sich jedoch keine erhöhten Risiken.²⁴

²³ Vgl. Kap. 3.4.2, 3.4.3 und 3.4.4

²⁴ Vgl. Kap. 3.4.2, 3.4.3 und 3.4.4

- Patienten mit simultaner Präsenz beider Erreger im Myokard zeigten eine inflammatorische Kardiomyopathie in geringerer Häufigkeit als Patienten mit Nachweis nur von PVB19. Bei Patienten mit Nachweis nur von PVB19 bestand auch eine signifikante Korrelation zur Diagnose einer borderline Myokarditis ($P < 0.0001$, nach Adjustierung $P < 0.0002$). Die absolute Häufigkeit mit der diese Diagnose gestellt werden konnte war jedoch geringer als bei Patienten mit Nachweis nur von PVB19. Patienten mit DCM und Nachweis einer Doppelinfektion zeigten, im Gegensatz zu den Patienten mit Nachweis nur von PVB19, eine zusätzliche Entzündung nicht überzufällig häufiger als bei Ausschluss einer Infektion. Bei Patienten mit sonstigen Kardiomyopathien konnte, entsprechend den Patienten mit Nachweis nur von HHV6 eine zusätzliche Entzündung ebenfalls auffällig seltener beobachtet werden.²⁵
- Die Häufigkeit, mit der bereits klinisch die Diagnose einer inflammatorischen Kardiomyopathie gestellt wurde, wies eine signifikante Korrelation mit dem positiven Nachweis nur von PVB19 auf ($P = 0.0001$, nach Adjustierung $P = 0.0003$). Auch der Nachweis einer Doppelinfektion wies eine signifikante Korrelation mit der klinischen Diagnose einer inflammatorischen Kardiomyopathie auf, welche jedoch deutlich schwächer ausgeprägt war ($P = 0.02$, nach Adjustierung $P = 0.04$). Der Nachweis nur von HHV6 wies keine Korrelation mit der klinischen Diagnose auf ($P = 0.53$). Auch bezogen auf die Diagnosegruppen konnte bei Nachweis nur von PVB19 ein jeweils höherer Anteil einer klinisch diagnostizierten inflammatorischen Kardiomyopathie gefunden werden, welcher bei Patienten mit histologischem Normalbefund am deutlichsten ausgeprägt war ($P = 0.039$, nach Adjustierung $P = 0.117$). Bei Nachweis einer Doppelinfektion war der Anteil mit Ausnahme bei Patienten mit borderline Myokarditis jeweils geringer ausgeprägt.²⁶

²⁵ Vgl. Kap. 3.4.2, 3.4.3 und 3.4.4

²⁶ Vgl. Kap. 3.5

- Die Analyse der klinischen Parameter Erkrankungsdauer, NYHA-Grad und Ejektionsfraktion zeigten bezüglich Nachweis oder Ausschluss der Erreger keine überzufälligen Unterschiede auf.²⁷
- Der Nachweis von PVB19 im peripheren Blut gelang bei 43/872 (4.9%) Patienten. In dieser Stichprobe gelang der Nachweis von PVB19 in 3/461 (0.7%) Fällen ohne gleichzeitigen Nachweis im Myokard wobei eine Virämie, definiert als der Nachweis viraler DNA im Serum, in einem dieser Fälle vorlag. Bei bereits positivem Nachweis im Myokard konnte PVB19 auch in 40/411 (9.7%) Fällen im peripheren Blut nachgewiesen werden. Eine Virämie lag hierbei in 18/411 (4.4%) Fällen vor. Die genaue Analyse zeigte, dass eine Virämie primär bei Patienten mit inflammatorischer Kardiomyopathie und im weiteren bei Patienten mit DCM auftrat.²⁸
- Die Prävalenz von HHV6 im peripheren Blut zeigte sich um annähernd den Faktor 3 höher als die von PVB19. HHV6 war dementsprechend bei 108/801 (13.5%) der Patienten nachweisbar. Der Nachweis von HHV6 im Blut gelang bei 57/630 (9.0%) der Patienten ohne gleichzeitigen Nachweis des Erregers im Myokard. Eine Virämie lag bei 10/630 (1.6%) dieser Patienten vor. Bei Patienten mit bereits positivem Nachweis von HHV6 im Myokard gelang der Nachweis im peripheren Blut in 51/171 (29.8%) Fällen. Eine Virämie wurde bei 20/171 (11.7%) der Fälle festgestellt, konnte jedoch bei Patienten mit inflammatorischer Kardiomyopathie nicht häufiger beobachtet werden und wurde, mit Ausnahme der Patienten mit akuter Myokarditis, in allen Diagnosegruppen festgestellt.²⁹

²⁷ Vgl. Kap. 3.6.1, 3.6.2 und 3.6.3

²⁸ Vgl. Kap. 3.7.1

²⁹ Vgl. Kap. 3.7.2

3.9 GÜTE DES STATISTISCHEN MODELLS

Die Güte des Modells wird in Tabelle 24 dargestellt. Sie gibt eine Übersicht über die im Modell untersuchten Gruppen und Faktoren und stellt die nach dem Modell berechnete erwartete Häufigkeit eines positiven Nachweises von PVB19 der tatsächlich beobachteten Häufigkeit gegenüber. Die beiden Häufigkeiten stimmen sehr gut überein, nur in der Gruppe der Patienten mit sonstigen Kardiomyopathien mit Nachweis von HHV6 ohne Entzündungsreaktion und in der Diagnosegruppe DCM mit Entzündungsreaktion, ohne Nachweis von HHV6 und einem Alter von über 10 Jahren gab es etwas grössere Differenzen. Der χ^2 -Test zur Überprüfung, ob die Verteilung der beobachteten Häufigkeiten den erwarteten Häufigkeiten entspricht, ergab keinen Unterschied ($\chi^2=11.7$, $P=0.76$).

Tabelle 24: Güte des Modells. Gegenüberstellung der beobachteten und erwarteten Anzahl positiver PVB19-Nachweise.

Diagnose- gruppe ¹⁾	HHV6 ²⁾	Alter ³⁾	Entzündung ⁴⁾	Wahrscheinlichkeit für PVB19	Anzahl Individuen in der Gruppe	PVB19 beobachtet ⁵⁾	PVB19 erwartet ⁶⁾
Kontrollgruppe	0	0	0	0.024	3	0	0.071
Kontrollgruppe	0	1	0	0.053	27	2	1.440
Kontrollgruppe	1	0	0	0.057	0	0	0
Kontrollgruppe	1	1	0	0.123	4	0	0.491
sonstige KMP	0	0	0	0.076	25	0	1.911
sonstige KMP	0	0	1	0.124	8	0	0.992
sonstige KMP	0	1	0	0.162	153	26	24.785
sonstige KMP	0	1	1	0.248	51	9	12.670
sonstige KMP	1	0	0	0.171	4	1	0.682
sonstige KMP	1	1	0	0.324	31	15	10.058
sonstige KMP	1	1	1	0.451	2	1	0.902
Normalbefund	0	0	0	0.164	7	0	1.145
Normalbefund	0	1	0	0.314	100	33	31.351
Normalbefund	1	1	0	0.532	16	8	8.505
Myokarditis	0	0	1	0.352	28	12	9.869
Myokarditis	0	1	1	0.560	331	184	185.267
Myokarditis	1	0	1	0.575	12	9	6.899
Myokarditis	1	1	1	0.760	75	54	56.965
DCM	0	0	0	0.154	21	3	3.236
DCM	0	0	1	0.238	4	1	0.950
DCM	0	1	0	0.298	280	80	83.570
DCM	0	1	1	0.421	111	54	46.746
DCM	1	0	0	0.312	4	1	1.246
DCM	1	1	0	0.514	73	37	37.512
DCM	1	1	1	0.644	26	14	16.740

1) KMP: Kardiomyopathie; 2) HHV6-Nachweis: 0=negativ, 1=positiv; 3) Alter: 0 <10 Jahre, 1 >10Jahre;

4) Entzündung: 0=nein, 1=Ja; 5) Anzahl der Patienten mit positivem PVB19-Nachweis (beobachtet);

6) Anzahl der Patienten mit positivem PVB19-Nachweis (im Modell erwartet)

4 Diskussion

4.1 ALLGEMEINES

Ein Grundprinzip der Medizin ist es, dass eine Krankheit bei Kenntnis der strukturellen Veränderungen im Gewebe besser verstanden werden kann [9]. Für PVB19 und HHV6 stehen keine experimentellen Tiermodelle zur Verfügung [30, 38]. Menschliches Myokardgewebe stellt deshalb die einzige Möglichkeit dar, pathomorphologische Veränderungen im Zusammenhang mit diesen Viren zu untersuchen, um Mechanismen der Krankheitsentstehung zu verstehen. Die Untersuchung von Endomyokardbiopsien ist eine wichtige Methode bei der Diagnosestellung von primären und sekundären Kardiomyopathien [5]. Ergänzend zur klassischen Histologie stehen heute moderne Verfahren wie Immunhistologie und Molekularbiologie zur Verfügung, welche weitere Informationen über Ätiologie und Pathogenese der Kardiomyopathien liefern [39, 67, 73]. Die in der Dallas Klassifikation festgelegten Regeln sehen vor, dass die Diagnosestellung nur auf Grund des morphologischen Befundes, unter Außerachtlassung der Klinik erfolgt, was ein Studiendesign wie in der vorliegenden Untersuchung rechtfertigt [6].

Die inflammatorische Kardiomyopathie gehört entsprechend der WHO-Klassifikation zu den spezifischen Kardiomyopathien und ist definiert als Myokarditis, welche mit einer kardialen Dysfunktion einhergeht [85, 117]. Bis zu 50% der inflammatorischen Kardiomyopathien werden durch Infektionen mit kardiotropen Viren oder Bakterien hervorgerufen [67, 73, 107, 108]. Die übrigen 50% haben eine autoimmunologische oder toxische Ursache [90].

Die Frage, die es zu beantworten gilt, ist nun, ob der Nachweis von PVB19 und HHV6 im Myokard mit einer Infektion und morphologischen Veränderungen assoziiert ist.

4.2 ERGEBNISDISKUSSION

4.2.1 Bedeutung des Nachweises von PVB19 im Myokard

Die morphologischen und molekularbiologischen Befunde dieser Studie zeigen eine positive Korrelation zwischen dem Nachweis von PVB19 und der inflammatorischen Kardiomyopathie auf. Bei 338 (62.4%) der 542 Patienten bei denen PVB19 nachgewiesen wurde, konnte eine entzündliche Reaktion beobachtet werden. Die statistische Regression im Modell zeigte, dass der Nachweis von PVB19 mit einem 1.7 fachen (OR 1.7, 95% KI 1.2-2.4) Risiko einer inflammatorischen Reaktion einhergeht und dass gegenüber der kardial gesunden Kontrollgruppe ein 12.2 faches (OR 12.2, KI 1.2-221.8) Risiko einer Myokarditis bestand. Der Nachweis nur von PVB19 war zudem gegenüber der Gruppe ohne Virusnachweis signifikant mit der Diagnose einer borderline Myokarditis assoziiert ($P < 0.0003$). Die Vermutung, dass PVB19 als ätiologisches Agens der inflammatorischen Kardiomyopathie zu betrachten ist, wird durch In situ Hybridisierungsstudien unterstützt, welche die Endothelzellen im koronaren Kapillargebiet als Zielzellen identifizieren konnten, jedoch nicht die Myozyten selbst, wie zunächst angenommen [17, 19, 67]. Immunhistologische Untersuchungen konnten die Expression von E-Selectin auf Endothelzellen gefolgt von einer intravaskulären Akkumulation, Margination, Adhäsion und Penetration von T-Lymphozyten sowie aktivierten Makrophagen, welche das umgebende Myokard infiltrieren, aufzeigen [17, 19, 67]. Diese Vorgänge führen zu ausgeprägten, koronaren Mikrozirkulationsstörungen, die im Einzelfall klinisch als akuter Myokardinfarkt imponieren, und sekundär zur Schädigung kardialer Myozyten führen können [19, 17, 77]. Die endotheliale Dysfunktion und ihre klinische Relevanz ist Gegenstand aktueller Untersuchungen [141]. Eine Infektion der Myozyten selbst konnte für die fetale, PVB19 assoziierte Myokarditis demonstriert werden [94, 113]. Fetale Myokardzellen exprimieren jedoch den zellulären Rezeptor (P-Antigen) von PVB19 [16], was eine direkte Infektion als möglich erscheinen lässt. Auf den Myokardzellen Erwachsener konnte das Blutgruppen-P-Antigen bisher nicht nachgewiesen werden. PVB19 benötigt für die Virusreplikation die S-Phase Enzyme der Wirtszelle. Da Myokardzellen jedoch nach der Geburt keinen aktiven Zellzyklus mehr besitzen, erscheint hier eine lytische Replikation von PVB19 unwahrscheinlich [96].

erscheint hier eine lytische Replikation von PVB19 unwahrscheinlich [96]. Die PVB19 assoziierte Myokarditis unterscheidet sich also von der Enterovirus Myokarditis, bei welcher die Endothelzellen nur zum Transit ins Myokard genutzt werden und die Myokardiozyten als spezifische Zielzellen durch einen zytopathischen Effekt zerstört werden [72]. In dieser Studie konnte wie auch in anderen Untersuchungen die Beobachtung gemacht werden, dass der PVB19-Nachweis mit einem höheren Alter assoziiert ist, was diese Erkenntnisse unterstützt [108]. Die statistische Regression zeigte ein 2.3 faches Risiko (OR 2.3, 95% KI 1.5-3.8) für die Altersgruppe über 10 Jahren. Darüber hinaus konnte keine signifikante Altersabhängigkeit des Nachweises von PVB19, insbesondere bei bestimmten Diagnosegruppen, gefunden werden. Pankuweit et al. [108] fanden in einer ähnlichen Studie nur bei Patienten mit Myokarditis und PVB19-Nachweis ein signifikant jüngeres Erkrankungsalter (39 ± 13 Jahre bei PVB19-Nachweis gegenüber 51 ± 12 Jahren bei PVB19-Ausschluss, $P < 0.039$). Das Myokard von Patienten mit borderline Myokarditis oder DCMi und Nachweis von PVB19 waren durch ein entzündliches Infiltrat gekennzeichnet, welches durch immunkompetente Makrophagen dominiert wurde. In der Literatur ist die immunhistologische Untersuchung der borderline Myokarditis üblicherweise auf die Analyse des T-lymphozytären Infiltrats beschränkt und zeigte, dass beispielsweise die Enterovirus assoziierte borderline Myokarditis gewöhnlich durch eine lymphozytäre Entzündung gekennzeichnet ist [146]. Aus diesem Grund ist eine detaillierte Untersuchung der immunkompetenten Makrophagen im Hinblick auf deren Potenzial als Antigen präsentierende oder Cytokin produzierende Zellen erforderlich [47, 151]. In dieser Studie konnte aufgezeigt werden, dass bei 39.9% der Patienten mit Nachweis nur von PVB19 und der histologischen Diagnose einer DCM eine interstitielle Entzündungsreaktion vorlag. Der Anteil der Patienten mit Entzündungsreaktion war signifikant höher als bei Patienten ohne Nachweis von PVB19 ($P = 0.0003$). Kühl et al. konnten in einem Kollektiv von 245 Patienten mit DCM PVB19 in 126 (51.4%) Fällen nachweisen, jedoch ohne Einfluss auf ein zelluläres Infiltrat. Bei Patienten mit sonstigen Kardiomyopathien und Nachweis von PVB19 konnte in der vorliegenden Untersuchung eine entzündliche Reaktion nicht häufiger gefunden werden als bei Patienten mit Ausschluss einer Infektion. PVB19 konnte in Explantaten von Patienten mit DCM

im Endstadium nicht oder nur mit geringer Prävalenz nachgewiesen werden [41, 51], was vermuten lässt, dass die virale Infektion in einer frühen Phase der Krankheitsentstehung von Bedeutung ist [78]. Die hier ermittelten Ergebnisse unterstützen das Konzept, nachdem das Vollbild der DCM in der Folge einer stattgehabten oder chronischen, virusassoziierten inflammatorischen Kardiomyopathie entstehen kann [21, 36, 72, 78, 90, 134, 146]. Andererseits kann auch argumentiert werden, dass die zugrundeliegende, möglicherweise idiopathische Kardiomyopathie durch die virusbedingte Entzündungsreaktion aggraviert werden kann [134]. Der von Young und Brown [151] geäußerten Skepsis gegenüber der PVB19 assoziierten inflammatorischen Kardiomyopathie muss insofern Rechnung getragen werden, als dass bei 38.9% (204/542) der Patienten sowie in der Kontrollgruppe (2/34) der Nachweis von PVB19 nicht mit einer Entzündungsreaktion einherging. Ähnliche Beobachtungen konnten bezüglich der Prävalenz von PVB19 in anderen Geweben wie Synovialgewebe, Leber und Knochenmark gemacht werden [25, 44]. Aus pathogenetischer Sicht wird die virale Persistenz ohne Entzündungsreaktion als latente virale Persistenz bezeichnet, welche entsprechend der latenten EBV-Persistenz nicht notwendigerweise mit einem klinischen Symptomenkomplex oder pathomorphologischen Veränderungen assoziiert sein muss [137]. Die in dieser Studie aufgezeigten Ergebnisse erklären deshalb möglicherweise die Vielzahl an publizierten, unterschiedlichen Ergebnissen im Hinblick auf die pathogenetische und prognostische Rolle des Nachweises von PVB19-DNA im Myokard [14, 77, 108].

4.2.2 Bedeutung des Nachweises von HHV6 im Myokard

Durch konsequente Analyse konnte in dieser Studie auch eine hohe Prävalenz von HHV6 im Myokard aufgezeigt werden. Insgesamt konnte HHV6 DNA bei 243 (17.8%) von 1362 Patienten nachgewiesen werden. Auch in der Kontrollgruppe gelang der Nachweis von HHV6 bei 4 (11.8%) Individuen. Da der Nachweis von HHV6 zu einem Großteil mit dem gleichzeitigen Nachweis von PVB19 assoziiert war, erschien eine wie hier durchgeführt, getrennte Analyse der Gruppen entsprechend der erhobenen PCR-Befunde sinnvoll. Durch das statistische Modell konnte aufgezeigt werden, dass im Gegensatz zu PVB19, der Nachweis von HHV6 signifikant mit einem geringeren Risiko

einer Entzündungsreaktion assoziiert ist (OR 0.6, 95% KI 0.4-0.9). Als auffällig erwies sich, dass bei Patienten mit Nachweis nur von HHV6 grenzwertig signifikant mit 49.5% die Diagnose einer DCM gestellt werden konnte (P=0.041, nach Adjustierung P=0.12). Bei diesen konnte eine zusätzliche Entzündungsreaktion (DCMi) jedoch nicht häufiger beobachtet werden als bei Patienten mit Ausschluß einer Infektion. Zudem konnte auch bei Patienten mit sonstigen Kardiomyopathien eine grenzwertig signifikant geringere Häufigkeit einer begleitenden Entzündungsreaktion festgestellt werden (P=0.058, nach Adjustierung P=0.1524). Eine Reaktivierung der HHV6-Infektion kann bei Erwachsenen, insbesondere unter Immunsuppression, der Literatur zufolge mit fulminanten Hepatitiden, Transplantatabstoßungen und schweren Erkrankungen einschließlich der Myokarditis assoziiert sein [22, 38, 52, 75, 118]. HHV6 ist durch vielfältige Mechanismen in der Lage, das Immunsystem des Wirts zu beeinflussen und dadurch seine Streuung sowie die Etablierung eines Latenzstadiums hervorzurufen [38]. Aufgrund des ubiquitären Vorkommens des zellulären Rezeptors (CD46) ist die Infektion einer Vielzahl von Geweben möglich. Die kardialen Zielzellen wurden bisher nicht genau definiert. Caruso et al. [23] konnten *in vitro* eine nichtlytische Replikation von HHV6 in Endothelien beobachten. Nach Infektion konnte virale m-RNA, als Indikator für die aktive Replikation in 10% der Endothelien der Aorta sowie in 1% der mikrovaskulären Endothelien des Herzens nachgewiesen werden. Zudem wurde eine proinflammatorische Änderung der Chemokinproduktion festgestellt. Dies begründete die Hypothese, dass die Endothelien als Reservoir für HHV6 fungieren. Rotola et al. [120] stützen diese Erkenntnis mit ihrer Studie am Endothel der Aorta. In der vorliegenden Studie ergaben sich keine eindeutigen Hinweise darauf, dass HHV6 allein eine inflammatorische Kardiomyopathie induziert. Ein Nachweis von HHV6-DNA in Endothelien des mikrovaskulären Systems könnte für die hohe Prävalenz verantwortlich sein. Jedoch konnte, unter Berücksichtigung aller Wechselwirkungen, im Modell gezeigt werden, dass Patienten mit Myokarditis ein höheres Risiko für den Nachweis von HHV6 gegenüber Patienten mit Normalbefund haben (OR 2.1, 95% KI 1.1-4.7). Derzeit ist nicht bekannt, wann es beim Immunkompetenten zur lytischen Replikation kommt [38]. Unter Berücksichtigung der in dieser Studie vorliegenden Daten bezüglich HHV6 kann deshalb nicht beantwortet werden,

ob der Nachweis von HHV6 im Myokard bei immunhistologisch gesicherter Entzündung als ätiologische Ursache zu deuten ist. Untersuchungen bezüglich der Relevanz von HHV6 im Rahmen von anderen Erkrankungen haben ebenfalls zu widersprüchlichen Ergebnissen geführt [38].

4.2.3 Bedeutung des simultanen Nachweises von PVB19 und HHV6

Überraschenderweise war der Nachweis von HHV6 signifikant bei 140 (57.6%) von 243 Patienten mit dem gleichzeitigen Nachweis von PVB19 assoziiert (OR 2.5, 95% KI 1.9-3.4). Die simultane Präsenz von HHV6 und PVB19 konnte auch von anderen Autoren beobachtet werden [78, 118, 141]. Von HHV6 sind molekulare Interaktionen mit anderen Viren bekannt. HHV6 kann unter anderem eine latente EBV Infektionen reaktivieren [38]. Für HIV-1 sind sowohl aktivierende wie auch supprimierende Effekte beschrieben [38]. Von Flamand et al. [49] konnte gezeigt werden, dass HHV6 immunsuppressive Effekte auf T-Lymphozyten hat. Hierauf wurde die Hypothese begründet, dass HHV6 zu einer Dissemination von PVB19 führen kann [118]. Trotz eingeschränkter Beurteilbarkeit aufgrund der relativ kleinen Fallzahl zeigte sich in dieser Studie kein additiver Effekt bei Patienten mit Doppelinfektion. Es konnte bei Patienten mit Doppelinfektion, entsprechend der Patienten mit Nachweis nur von PVB19, ein signifikant erhöhter Anteil an Patienten mit borderline Myokarditis aufgezeigt werden ($P < 0.002$). Mit 43.6% (61/140) waren dies jedoch weniger Patienten als bei Nachweis nur von PVB19. In der Diagnosegruppe DCM fand sich ein mit 26.9% (14/38) nicht signifikant erhöhter Anteil an Patienten mit verstärkter Entzündungsreaktion gegenüber 39.9% (55/83) bei Patienten mit Nachweis nur von PVB19 und 21.6% (60/218) bei Patienten mit Ausschluss einer Infektion. Dies lässt den Schluss zu, dass bei Patienten mit einer Doppelinfektion eventuell eine immunsuppressive Komponente von HHV6 einen Einfluss auf die Entzündungsreaktion haben könnte. Offen bleibt ob HHV6 in der Lage ist anderweitig eine kardiale Dysfunktion zu begünstigen, welche nicht unbedingt ein morphologisches Substrat haben muss. Untersuchungen haben gezeigt, dass HHV6 unter anderem erhöhte TNF- α und Interleukinspiegel induziert [38]. Für diese konnten unter anderem negativ inotrope Effekte nachgewiesen werden. Außerdem scheinen sie eine

wichtige Rolle bei der Entstehung und Progression des Herzversagens zu spielen [134]. Kühl et al. [78] beschreiben am Beispiel von PVB19 und HHV6 die klinische Erfahrung, dass die spontane oder Interferon- β induzierte Clearance eines Virus (HHV6) bei Persistenz des anderen (PVB19) zu einer hämodynamischen Verbesserung beim Patienten führen kann.

4.2.4 Korrelation von PVB19 und HHV6 bezüglich klinischer Diagnose und klinischer Parameter

Über die Evaluation der morphologischen Befunde hinaus war es in dieser Studie möglich klinische Daten der Patienten, wie sie zum Zeitpunkt der Biopsieentnahme festgehalten wurden, mit in die Untersuchung einzubeziehen. Kardiale Virusinfektionen haben kein typisches klinisches Bild. Die Symptomatik von Patienten mit Myokarditis ist sehr variabel und kann geprägt sein von Arrhythmien, kardialer Dysfunktion oder pectanginösen Beschwerden. Ein asymptomatischer Verlauf ist ebenso möglich [36]. Aus diesem Grund gestaltet sich die klinische Diagnose oft schwierig und Bedarf der Berücksichtigung unterschiedlicher Untersuchungsbefunde [84]. Die Auswertung der Fragestellung ob bei einem Patienten bereits klinisch die Diagnose einer inflammatorischen Kardiomyopathie vorlag und somit die Indikationsstellung zur Biopsieentnahme bestimmte zeigte, dass diese signifikant mit dem Nachweis nur von PVB19 assoziiert war ($P=0.0003$). Der Nachweis nur von HHV6 hingegen zeigte diese Korrelation nicht ($P=0.53$). Patienten mit Doppelinfektion zeigten wiederum eine signifikante Häufung der klinischen Diagnose einer inflammatorischen Kardiomyopathie, die jedoch geringer ausgeprägt war als bei Nachweis nur von PVB19 ($P=0.04$). Diese Beobachtungen zeigen erneut keinen additiven Effekt der Doppelinfektion sowie auch keinen klinischen Effekt der Präsenz nur von HHV6. Der Einfluss von PVB19 auf das klinische Bild des Patienten wie in dieser Studie beobachtet, lässt sich nach bisherigen Erkenntnissen durch die endotheliale Dysfunktion [17, 19, 141], die in der Folge einer Infektion der Endothelzellen entsteht oder bereits sekundär eingetretenen entzündlichen Veränderungen erklären, die ihrerseits eine endotheliale Dysfunktion induzieren können [142]. Die Auswertung der klinischen Diagnose nach Diagnosegruppen in Abhängigkeit vom

PCR-Befund zeigte in der vorliegenden Studie bei Nachweis nur von PVB19 immer einen jeweils höheren Anteil des klinischen Bildes einer inflammatorischen Kardiomyopathie als bei Ausschluss einer Infektion. Überraschend zeigten Patienten mit histologischem Normalbefund, trotz der nach Aufteilung kleineren Fallzahl, noch eine grenzwertig signifikante Häufung ($P=0.0386$, nach Adjustierung $P=0.1158$). Zudem konnte durch die logistische Regression beim Vergleich der Patienten mit histologischem Normalbefund mit der Kontrollgruppe ein 7.5 faches (OR 7.5, 95% KI 1.3-78.1) erhöhtes Risiko für PVB19 gefunden werden. Unter Berücksichtigung der hier geschilderten Erkenntnisse, kann vermutet werden, dass bei diesen Patienten eine frühe Phase der PVB19-Infektion mit ausgeprägter endothelialer Dysfunktion vorliegt und eine sekundäre, morphologische Veränderung im Sinne einer Entzündungsreaktion des Myokards noch nicht eingetreten ist. Im Hinblick auf die Technik der Endomyokardbiopsie und die Pathophysiologie der Kardiomyopathien, die sich oft nicht in allen Myokardanteilen gleichzeitig abspielt, muss jedoch auch ein möglicher „sampling error“ in Betracht gezogen werden, in dessen Folge ein falsch negativer Befund durch Biopsieentnahme aus nicht erkrankten Regionen erhoben wird [9]. Komplementierend wurde auch innerhalb der Diagnosegruppen kein auffälliger Einfluss der Präsenz nur von HHV6 auf die klinische Diagnose festgestellt. Patienten mit Nachweis einer Doppelinfection zeigten wiederum einen deutlich höheren Anteil der klinischen Diagnose einer inflammatorischen Kardiomyopathie, der jedoch tendenziell geringer ausgeprägt war als bei Nachweis nur von PVB19.

Die klinischen Parameter, Erkrankungsdauer vor Biopsieentnahme, Grad der Herzinsuffizienz nach NYHA und Ejektionsfraktion, welche in dieser Studie zur Auswertung kamen, zeigten sich bei Nachweis von PVB19 oder HHV6 durchgängig nicht überzufällig beeinflusst. Pankuweit et al. [108] fanden in ihrem Kollektiv an Endomyokardbiopsien allein für Patienten mit Myokarditis und positivem Nachweis von PVB19 eine verminderte EF gegenüber den Patienten ohne Nachweis von PVB19 ($42\% \pm 21\%$ gegenüber $49\% \pm 14\%$, $P < 0.045$). Die Werte für andere Erkrankungen zeigten, ähnlich wie in dieser Studie keine oder tendenziell höhere EF Wert bei Nachweis von PVB19 gegenüber den Patienten ohne Nachweis. Tschöpe et al. [141] fanden beim Vergleich von Patienten mit

diastolischer Dysfunktion (n=37, davon PVB19 positiv n=31) gegenüber Patienten mit normaler diastolischer Funktion (n=33, PVB19 positiv n=7) keinen signifikanten Unterschied bezüglich der EF ($67\% \pm 9\%$ gegenüber $69\% \pm 7\%$). Die klinische Diagnose beinhaltet, je nach Verfügbarkeit, die Befunde unterschiedlicher Untersuchungstechniken, das klinische Bild des Patienten im Ganzen sowie die Erfahrung des behandelnden Arztes. Die Auswertung der klinischen Diagnose in der vorliegenden Untersuchung ergab ein statistisch deutliches Ergebnis, welches sich durch die in der Literatur beschriebenen Erkenntnisse erklären lässt. Aus diesem Grund kann geschlossen werden, dass die Parameter Ejektionsfraktion und NYHA-Grad möglicherweise nicht geeignet sind, Auswirkungen der hier untersuchten Infektionen zu erfassen. Die bei Studienbeginn aufgestellte Hypothese, dass insbesondere der Nachweis von PVB19 mit einer verkürzten Erkrankungsdauer assoziiert sein könnte, konnte nicht bestätigt werden.

Eine weitere Aufteilung der Diagnosegruppen DCM und sonstige Kardiomyopathien entsprechend dem immunhistologischen Nachweis oder Ausschluss einer Entzündungsreaktion zusätzlich zum PCR-Befund erbrachte nur sehr kleine Fallzahlen. Eine Überprüfung der Hypothese ob diese Patientengruppen Unterschiede bezüglich der klinischen Parameter zeigen konnte deshalb nicht überprüft werden.

4.2.5 Systemischer Nachweis von PVB19 und HHV6

Die Untersuchung von peripherem Blut auf PVB19 (n=872) und HHV6 (n=801) stellte in dieser Studie eine Möglichkeit dar, die Prävalenz der Viren bei kardiologischen Patienten zum Zeitpunkt der Biopsieentnahme zu ermitteln. Persistenz ist als der weitere Nachweis viraler Genome im Anschluss an die Primärinfektion ohne Virusreplikation definiert [24]. Reinfektion und Reaktivierung sind durch erneuten Nachweis viraler Replikation bei Patienten mit bestehendem IgG-Antikörpertiter gekennzeichnet. Eine Reinfektion setzt zudem den Nachweis einer neuen Virusvariante voraus [24]. Es konnte gezeigt werden, dass der Nachweis viraler Genome im Serum mittels PCR mit aktiver Virusreplikation korreliert, jedoch nicht zwischen Primärinfektion, Reaktivierung und Reinfektion differenzieren kann [24]. Der Nachweis von viraler DNA im Serum der

Patienten konnte hier somit als Indikator für eine bestehende Virämie herangezogen werden. Verschiedene Untersuchungen am Plasma von Blutspendern konnten eine PVB19-Prävalenz von 0.003% bis 0.6% aufzeigen [58]. Heegard E.D. et al. [59] haben bei der Untersuchung von 190 gesunden Probanden PVB19-DNA bei 2.1% im Knochenmark jedoch in keinem der Fälle im Serum nachgewiesen. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass möglicherweise ein Mechanismus, ähnlich der Varicella zoster Infektion durch altersabhängige Verminderung des Antikörpertiters oder der zellulären Immunabwehr zur geringgradigen Reaktivierung oder Reinfektion mit konsekutiver Nachweisbarkeit viraler DNA führen kann [59]. Musiani M. et al. konnten aufzeigen, dass nach akuter Infektion und Virämie PVB19-DNA bei 13 von 14 Patienten bis zu 6 Monate mittels PCR im Blut nachweisbar bleibt. Bei einem Patienten, der eine chronische Infektion entwickelte konnte, PVB19 auch noch nach 12 Monaten nachgewiesen werden [97]. In der vorliegenden Untersuchung konnte PVB19 im Blut von 4,9% der Patienten festgestellt werden. Bei 0.7% (n=3) der Patienten ohne Nachweis von PVB19 im Myokard gelang der Nachweis des Virus im Blut. Bei einem dieser Patienten konnte eine Virämie festgestellt werden. Dieser Wert liegt demnach im Bereich der Prävalenz bei gesunden Blutspendern. Bei Patienten mit Nachweis von PVB19-DNA im Myokard erhöhte sich der Anteil der Patienten mit Nachweis einer Virämie auf 4.4%. Dies legt den Schluss nahe, dass bei einem Teil dieser Patienten möglicherweise eine akute Infektion innerhalb der letzten Monate bestand. Bis auf 5 Patienten mit DCM jedoch ohne entzündliche Begleitreaktion waren alle positiven Serumnachweise Patienten mit borderline Myokarditis oder akuter Myokarditis zuzuordnen. Dies unterstreicht die Hypothese, dass PVB19 im Rahmen einer Virämie am Herzen zu einer Infektion führen kann und ätiologisch mit der Entstehung der inflammatorischen Kardiomyopathie assoziiert ist. Kritisch muss angemerkt werden, dass die Präsenz von PVB19-DNA im Blut ein falsch positives Ergebnis der PCR am Myokard vortäuschen kann. In dieser Studie konnten aber auch positive Befunde am Blut unter Ausschluss von PVB19 im Myokard erhoben werden, was die mögliche Kontamination als sehr gering einschätzen lässt. Diese Einschätzung wurde auch von anderen Autoren vorgenommen [78].

HHV6 persistiert im Anschluss an die Primärinfektion latent, neben vielen anderen Geweben in Monozyten und Makrophagen [38, 76]. Caserta et al. [24] konnten an einer Kohorte von gesunden Kindern (n=306, Median des Alters 6.2 Jahre) aufzeigen, dass HHV6-DNA in peripheren Monozyten nach stattgehabter Primärinfektion in bis zu 76% der Fälle intermittent und in 12% der Fälle immer nachweisbar ist. Mit zunehmendem Alter nimmt die Häufigkeit des Nachweises jedoch ab. Weiterhin konnte durch Anwendung der RT-PCR (Reverse Transkriptase-PCR) in 1.1% der Fälle über einen Zeitraum von 48 Monaten virale m-RNA als Indikator für aktive Virusreplikation und damit eine Reaktivierung oder eine Reinfektion gefunden werden. Die Analyse im vorliegenden Patientenkollektiv ergab eine HHV6-Prävalenz von 13.5% im Blut. Bei 9% der Patienten ohne Nachweis von HHV6 im Myokard gelang der Nachweis dennoch im Blut. Hierbei konnte bei 1.6% der Patienten virale DNA als Marker für aktive Virusreplikation im Serum nachgewiesen werden. Bei 29.8% der Patienten mit Nachweis von HHV6 im Myokard gelang der Nachweis auch im Blut, davon bei 11.7 % der Patienten im Serum. Dies zeigt, dass bei positivem Nachweis von HHV6 im Myokard, ein bei einem wesentlich größerem Anteil der Patienten eine aktive Virusreplikation und damit eine Virämie vorliegt. Daraus kann geschlossen werden, dass es bei Primärinfektion oder Reaktivierung der HHV6-Infektion auch zu einer Streuung in das Herz kommt. Eine HHV6-Virämie konnte jedoch im Gegensatz zur PVB19-Virämie in allen Diagnosegruppen (mit Ausnahme der akuten Myokarditis) festgestellt werden.

4.3 VERGLEICH MIT VORAUSGEGANGENEN STUDIEN

Die im Folgenden aufgeführten Studien beschäftigen sich mit der Analyse von Endomyokardbiopsien. Daneben existieren weitere Studien sowie zahlreiche Fallberichte und Beobachtungen [11, 14, 17, 18, 20, 28, 41, 43, 45, 51, 77, 79, 87, 95, 96, 99, 103, 110, 123, 127, 143, 144]. Untersuchungen an explantierten Herzen haben bisher widersprüchliche Ergebnisse mit einer PVB19 Prävalenz von 0% bis 9% erbracht [14, 41, 51]. Autoptisch gewonnenes Gewebe von Patienten mit kongenitaler Herzerkrankung zeigten hingegen eine Prävalenz von 17.2% [144].

Lotze et al. [81] untersuchten Endomyokardbiopsien von Patienten mit DCM (n=52), Ausschluss einer Myokarditis und eingeschränkter Ejektionsfraktion ($EF < 55\%$) sowie Myokardgewebe von Patienten die einen koronaren Bypass erhielten und deren Ejektionsfraktion nicht eingeschränkt war ($EF \geq 55\%$). PVB19 konnte bei 22 (42.3%) der DCM-Patienten (davon in 8 Fällen zusammen mit Enteroviren) und bei 4 (10%) der Kontrollpatienten gefunden werden. Ein Nachweis von HHV6 wurde hier nicht geführt. Histologisch sowie immunhistologisch konnten keine Unterschiede bezüglich Myozytendiameter, interstitieller Fibrose, zellulärem Infiltrat (T-Lymphozyten, Makrophagen, aktivierten Lymphozyten) und der Expression von MHC-Klasse-I und MHC-Klasse-II Antigenen beim Vergleich der Patienten mit und ohne Nachweis von PVB19 aufgezeigt werden. Bezüglich klinischer Parameter, unter anderem der EF und des NYHA-Grades, bestanden ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Pankuweit et al. [108] untersuchten Endomyokardbiopsien von Patienten mit klinischem Verdacht auf eine inflammatorische Kardiomyopathie (n=110). Eine Kontrollgruppe wurde aus Patienten mit arterieller Hypertension ohne Ventrikeldilatation gebildet (n=28). Histologisch und immunhistologisch wurden die Diagnosen Myokarditis, DCM, DCMi, Perimyokarditis, abgeheilte Myokarditis und Normalbefund gestellt. PVB19 konnte bei 16 (15%) Patienten der Studiengruppe und 2 (7%) Patienten der Kontrollgruppe gefunden werden. Die Nachweise verteilten sich bezogen auf die Diagnose wie folgt: Myokarditis 7/36 (19.4%), DCM 3/18 (16,7%), DCMi 3/13 (23.1%), Perimyokarditis 2/12 (16,7%), abgeheilte Myokarditis 0/5, Normalbefund 1/26 (3.8%). PVB19 DNA wurde nur bei einem Patienten der Kontrollgruppe im Plasma bei gleichzeitigem Nachweis im Myokard gefunden. Die Evaluation weiterer Daten ergaben, dass Patienten mit Myokarditis und Nachweis von PVB19 signifikant jünger waren als Patienten ohne Nachweis (39 ± 13 Jahre gegenüber 51 ± 12 Jahre, $P < 0.039$). Ebenso ergab sich, dass diese Patienten eine signifikant geringere EF aufwiesen ($42\% \pm 21\%$ gegenüber $49\% \pm 14\%$, $P < 0.045$). Die Verteilung der Parameter zeigte im Übrigen, wie auch in der vorliegenden Studie, keine signifikanten Unterschiede.

Klein et al. [71] haben ein Kollektiv von 80 Patienten (Alter 52 ± 14 Jahre) bei welchen klinisch der Verdacht auf Myokarditis oder linksventrikuläre Dysfunktion mit unbe-

kannter Ursache bestand untersucht. Als Ausschlusskriterien wurden die koronare Herzkrankheit und die restriktive Kardiomyopathie definiert. Eine Kontrollgruppe wurde aus 36 Patienten (Alter 52 ± 14 Jahre) gebildet, welche zum Ausschluss einer kardialen Erkrankung biopsiert wurden und bei denen histologisch und immunhistologisch keine Hinweise auf eine Myokarditis oder DCM zu erheben war gebildet.

PVB19 wurde bei 9 (11.2%) Patienten der Studiengruppe aber bei keinem Patienten der Kontrollgruppe nachgewiesen. Die histologische Untersuchung ergab bei keinem Patienten eine akute Myokarditis entsprechend der Dallas-Klassifikation. Immunhistologisch konnte jedoch bei 31/80 Patienten ein entzündliches Infiltrat festgestellt werden (4/9 bei Nachweis bzw. 37/71 bei Ausschluss von PVB19). Die Analyse der klinischen Kriterien, Dyspnoe, Brustschmerz, Palpitationen, Synkopen und Wiederbelebungsmaßnahmen sowie von Alter und Geschlecht ergab keinen Unterschied beim Vergleich der Patienten mit bzw. ohne Nachweis von PVB19. Ebenfalls ergab die Evaluation der klinischen Parameter, unter anderem der EF und des NYHA-Grades, sowie die Auswertung der immunhistologischen Marker (CD3, CD4, CD8, Makrophagen, HLA-I/II) keinen Unterschied zwischen den Gruppen.

Kühl et al. [78] untersuchten ein Kollektiv von 245 Patienten mit DCM. Eine Kontrollgruppe wurde nicht gebildet. Neben anderen Nachweisen konnte PVB19 bei 126 (51.4%) und HHV6 bei 53 (21.6%) Patienten gefunden werden. 26 (15.8%) dieser Patienten hatten eine Doppelinfektion. Die Blutuntersuchung zeigte für PVB19 und HHV6 keine signifikante Reaktivierung. PVB19-DNA war bei keinem, HHV6-DNA bei 3 (5.6%) der Patienten, bei welchen zuvor ein Nachweis im Myokard gelang, auch im Serum nachweisbar. Eine besonders hohe PVB19-Prävalenz (80%) wurde bei Patienten unter 25 Jahren gefunden, ansonsten konnte keine Korrelation zum Alter der Patienten hergestellt werden. Die histologische Analyse konnte in keinem Fall eine akute oder borderline Myokarditis aufzeigen. Die Ausprägung der immunhistologischen Marker für T-Lymphozyten (CD3+) und Makrophagen (27E10+) sowie deren Anzahl pro mm^2 zeigten in Abhängigkeit des PCR-Befundes keine Unterschiede auf.

Tschöpe et al. [141] wählten eine Patientengruppe ($n=70$, Alter 43 ± 11 Jahre) mit klinischem Verdacht auf isolierte diastolische Dysfunktion unter Ausschluss bekannter Risi-

kofaktoren für diese aus. Bei 37 (53%) Patienten konnte eine isolierte diastolische Dysfunktion verifiziert werden. Bei 35 (95%) dieser Patienten gelang der Nachweis viraler Genome im Myokard (PVB19-Monoinfektion n=24, HHV6-Monoinfektion n=2, EV-Monoinfektion n=2, Doppelinfektion PVB19 und HHV6 n=6, Doppelinfektion HHV6 und EBV n=1). In einer Subgruppe von 10 Patienten mit Koexistierender endothelialer Dysfunktion gelang der Nachweis in allen Fällen. In der Gruppe, in der die diastolische Dysfunktion nicht verifiziert wurde, gelang der Nachweis viraler Genome in 7 (21%) Fällen (PVB19-Monoinfektion n=6, Doppelinfektion PVB19 und HHV6 n=1, EV-Monoinfektion n=1). Die histologische Untersuchung zeigte bei keinem der Patienten das Bild einer akuten oder borderline Myokarditis entsprechend der Dallas-Klassifikation. Über die Befunde der immunhistologischen Untersuchung wird von den Autoren jedoch nicht berichtet.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass bisherige Studien an Endomyokardbiopsien ebenfalls eine hohe Prävalenz von PVB19 und, sofern der Nachweis geführt wurde, von HHV6 feststellen konnten. Die Patientenkollektive wurden jedoch nach bestimmten Kriterien selektiert und geben deshalb nicht die Prävalenz von PVB19 und HHV6 in der Routinediagnostik wieder. Die Kontrollgruppen bestanden aus Patienten, die ebenfalls einer Endomyokardbiopsie unterzogen wurden. Bemerkenswert ist dennoch die Untersuchung von Tschöpe et al. [141] die durch gezielte Selektion von Patienten mit endothelialer Dysfunktion eine sehr hohe PVB19 Prävalenz von bis zu 100% gefunden haben, was bisherige Erkenntnisse zur Pathophysiologie der PVB19-Infektion stützt. Der Nachweis von HHV6, der in wenigen Studien erfolgte, wird von den Autoren in seiner Bedeutung kontrovers diskutiert [78, 141].

Die Analyse klinischer Parameter wie der Ejektionsfraktion und des NYHA-Grades zeigten sich auch in den hier aufgeführten Studien nicht von Nachweis oder Ausschluss von PVB19 beeinflusst. Eine Ausnahme bildeten Patienten mit Myokarditis und Nachweis von PVB19 in der Studie von Pankuweit et al. [108], deren EF signifikant eingeschränkt war.

Eine Analyse der klinischen Diagnose war durch Selektion der Patienten in den bisherigen Studien nicht möglich. Ebenso wurde bisher nicht versucht histologische und immunhistochemische sowie molekularbiologische Befunde in einem statistischen Modell zu analysieren. Die in der vorliegenden Studie aufgezeigten Sachverhalte stellen deshalb neue Erkenntnisse dar, welche die Literatur ergänzen. Die hier ebenfalls aufgezeigte, signifikante Korrelation des PVB19-Nachweises zum interstitiellen Infiltrat steht im Widerspruch zu bisherigen Studien, in denen sich die interstitielle Entzündungsreaktion unbeeinflusst von Nachweis oder Ausschluss von PVB19 zeigte. Eine pathomorphologische Charakterisierung erfolgte in bisherigen Studien nicht. Weitere Untersuchungen sind deshalb in diesem Zusammenhang erforderlich. Die Tabelle 25 zeigt eine Zusammenfassung der hier aufgeführten Studien, sowie die ermittelte Prävalenz von PVB19 und gegebenenfalls von HHV6.

Tabelle 25: Studienübersicht: Prävalenz von PVB19 und HHV6 in Endomyokardbiopsien.

Autor	Material^{*)}	Anzahl Patienten	Anteil PVB19	Anzahl Kontrollen	Anteil PVB19
Lotze et al. 2003 [81] ^{a)}	EMB	52	22 (42.3%)	10	4 (40%)
Pankuweit et al. 2003 [108] ^{b)}	EMB	110	16 (15%)	28	2 (7%)
Klein et al. 2004 [71] ^{c)}	EMB	80	9 (11.2%)	36	0
Kühl et al. 2005 [78] ^{d)}	EMB	245	126 (51.4%) <i>HHV6:</i> 53 (21.6%) davon <i>PVB19 und</i> <i>HHV6:</i> 26 (15.8%)		
Tschöpe et al. 2005 [141] ^{e)}	EMB	34	31 (84%) <i>HHV6:</i> 9 (26.5%) davon <i>PVB19 und</i> <i>HHV6:</i> 6 (17.6%)	36	7 (19.4%) <i>HHV6:</i> 1 (2.9%) davon <i>PVB19 und</i> <i>HHV6:</i> 1 (2.9%)

^{*)} EMB= Endomyokardbiopsien

^{a)} 52 Patienten mit DCM, 10 Patienten, die einen koronaren Bypass bekamen als Kontrollgruppe

^{b)} 110 Patienten mit klinischem Verdacht auf eine inflammatorische Kardiomyopathie. Kontrollgruppe bestehend aus Patienten mit arterieller Hypertonie

^{c)} 80 Patienten mit DCM. Kontrollgruppe mit Patienten ohne histologischen Hinweis auf Myokarditis oder DCM

^{d)} 245 Patienten mit DCM

^{e)} 70 Patienten mit klinischem Verdacht auf diastolische Dysfunktion, davon 34 verifiziert, 36 nicht verifiziert

4.4 THERAPEUTISCHE ASPEKTE

Von Bedeutung sind die Erkenntnisse, wie sie der Literatur zu entnehmen sind und in der vorliegenden Untersuchung aufgezeigt werden konnten, im Hinblick auf mögliche Therapieentscheidung bei molekularbiologischem Nachweis von PVB19 und/oder HHV6 bei Patienten mit histologisch und immunhistochemisch gesicherter inflammatorischer Kardiomyopathie.

Patienten bei welchen die Diagnose einer inflammatorischen Kardiomyopathie mit oder ohne Nachweis einer Viruspersistenz gesichert wurde, sollten neben der heute standardisierten Herzinsuffizienztherapie auch eine ätiologisch orientierte Therapie unter Studienbedingungen erhalten [109]. Gegenwärtige Studien sollen die Frage beantworten, ob eine solche ätiologisch orientierte Therapie Klinik und Prognose der Patienten verbessern kann. In der ESETCID-Studie (European Study of Epidemiology and Treatment of Cardiac Inflammatory Disease) werden Patienten mit eingeschränkter Ejektionsfraktion und Nachweis einer entzündlichen (virusnegativen) Herzerkrankung nach den WHF-Kriterien für eine 6-monatige Therapie mit Prednisolon + Azathioprin versus Placebobehandlung randomisiert [65]. Die BICC-Studie (Bioferon[®] in Patients with Chronic Viral Cardiomyopathy) schließt Patienten mit eingeschränkter Pumpfunktion und Enterovirus- oder PVB19-Nachweis unabhängig von der Entzündungsreaktion ein. Die Patienten werden für eine Therapie mit Interferon- β versus Placebo randomisiert [101]. Größere Untersuchungen zur Hyperimmunglobulintherapie im Hinblick auf die PVB19-Infektion des Myokards existieren derzeit in den USA [90] und Japan [70].

Die pathogenetische Bedeutung des HHV6-Nachweises im Myokard, insbesondere im Rahmen der inflammatorischen Kardiomyopathie ist bisher nicht geklärt [141]. Dennoch gibt es Berichte über ein klinisches Benefit speziell für Patienten, bei denen eine Doppelinfektion von PVB19 und HHV6 vorliegt [78]. Gesicherte Erkenntnisse existieren jedoch nicht. Für die antivirale Therapie von HHV6 existieren derzeit weder kontrollierte Studien noch formal für die HHV6-Behandlung anerkannte Medikamente. Aus diesem Grund sind die klinisch eingesetzten Therapeutika dieselben wie auch für die CMV-Infektion [38]. Zur Verfügung stehen die Nukleosidanaloga Ganciclovir, Valgan-

ciclovir und Aciclovir, das Nukleotidanalogen Cidofovir und das Pyrophosphatanalogon Foscarnet. Alle sind jedoch mit teils schweren Nebenwirkungen behaftet [38].

4.5 SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zur Prävalenz von PVB19 und HHV6 in Endomyokardbiopsien unter besonderer Berücksichtigung der inflammatorischen Kardiomyopathie lassen folgende Schlussfolgerungen zu:

- PVB19 und HHV6 sind für die molekularbiologische Diagnostik an Endomyokardbiopsien relevante Erreger.
- Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass PVB19 eindeutig als kardiopropoter Erreger einzuordnen ist und zudem einen erheblichen Risikofaktor für Patienten mit kardialer Grunderkrankung darstellt. Der Nachweis von HHV6 allein scheint nicht mit der inflammatorischen Kardiomyopathie assoziiert zu sein. Die pathogenetische Bedeutung des HHV6-Nachweises im Myokard muss jedoch durch weitere Studien geklärt werden.
- Die in der vorliegenden Untersuchung gefundene, signifikante Korrelation des Nachweises von PVB19 mit der inflammatorischen Kardiomyopathie steht im Widerspruch zur bisherigen Literatur. Exakte pathomorphologische Untersuchungen mit quantitativer Bestimmung der Entzündungszellen sind deshalb von zukünftigen Studien zu fordern.
- PVB19 und HHV6 zeigen in dieser Studie keinen additiven Effekt ihrer Pathogenität. Vielmehr scheint HHV6 eine immunsuppressive Wirkung zu entfalten, welche die Pathogenität von PVB19 abschwächt. Da genaue Mechanismen der molekularen Interaktion von PVB19 und HHV6 nicht bekannt sind, kann dies nur als Hinweis gewertet werden.

- Der in der Literatur beschriebene Mechanismus der endothelialen Dysfunktion in Folge einer PVB19-Infektion scheint sich in der klinischen Präsentation der Patienten unter dem Bild einer inflammatorischen Kardiomyopathie zu reflektieren. Die in dieser Studie aufgezeigten Ergebnisse zeigen, dass die PVB19-Infektion im Myokard das klinische Bild des Patienten grundsätzlich beeinflusst. Die Präsenz von PVB19 im Myokard ist so signifikant mit dem klinischen Bild einer inflammatorischen Kardiomyopathie assoziiert. Die Präsenz nur von HHV6 hat keinen Einfluss auf das klinische Bild des Patienten.
- Die endomyokardiale Biopsieentnahme stellt eine unverzichtbare Grundlage für die ätiologische Ursachenabklärung und Therapie der virusbedingten inflammatorischen Kardiomyopathie dar.

5 Zusammenfassung

In den vergangenen Jahren wurde auf eine Bedeutung von Parvovirus B19 (PVB19) als kardiotropes Virus hingewiesen. Neue Untersuchungen deckten auch eine hohe Prävalenz des Humanen Herpesvirus 6 (HHV6) im Myokard auf. Kritik an bisherigen Untersuchungen gründete sich darauf, dass bisher keine systematischen Studien mit geeigneten Kontrollgruppen durchgeführt wurden und keine exakte morphologische Charakterisierung der Befunde entsprechend der Dallas-Klassifikation erfolgte.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Prävalenz von PVB19 und HHV6 in Endomyokardbiopsien an einem großen Patientenkollektiv im Rahmen der Routinediagnostik zu ermitteln und die Korrelation von pathomorphologischen Befunden und klinischen Daten mit molekularbiologischen Befunden zu überprüfen.

Im Rahmen der Studie wurden Endomyokardbiopsien von 1362 Patienten sowie autopsisches Gewebe von 34 Personen (Kontrollgruppe) mittels histologischen, immunhistochemischen sowie molekularbiologischen (n.PCR) Methoden untersucht (Tripeldiagnostik). Die Diagnosestellung erfolgte entsprechend der WHO-Klassifikation der Kardiomyopathien einschließlich der Dallas-Klassifikation. Von 872 Patienten standen zusätzlich EDTA-Blutproben zur Verfügung. Die Analyse der Daten wurde durch logistische Regressionen in einem Modell sowie statistische Tests vorgenommen.

Die Prävalenz von PVB19 konnte mit 39.8% (n=542) und die Prävalenz von HHV6 mit 17.8% (n=243) festgestellt werden. Die simultane Präsenz beider Erreger im Myokard, welche bei 140 dieser Patienten beobachtet wurde, wies eine positive Korrelation auf (OR 2.5, 95% KI 1.9-3.4). Der PVB19-Nachweis korrelierte signifikant mit der Altersgruppe über 10 Jahre (2.3 OR, 95% KI 1.5-3.8). Im Übrigen ergaben sich bezüglich Alter und Geschlecht der Patienten keine Unterschiede im Hinblick auf Nachweis oder Ausschluss von PVB19 und HHV6 im Myokard. In der Kontrollgruppe konnte PVB19 bei 2 (5.9%) und HHV6 bei 4 (5.9%) Personen nachgewiesen werden.

Eine inflammatorische Kardiomyopathie konnte bei 375/645 (58,1%) der Patienten mit positivem Nachweis von PVB19 oder HHV6 gefunden werden, entsprechend 260/402

(64.7%) Patienten mit Nachweis nur von PVB19, 37/103 (35.9%) Patienten mit Nachweis nur von HHV6 sowie 78/140 (55.7%) Patienten mit einer Doppelinfektion. Die pathomorphologische Klassifikation der Entzündung ergab bei 7/375 (1.9%) Patienten eine akute Myokarditis und bei 276/375 (73.6%) Patienten eine borderline Myokarditis. Patienten mit DCM zeigten gegebenenfalls zusätzlich eine Entzündungsreaktion (DCMi). Dieser Gruppe konnten 81/375 (21.6%) Patienten zugeordnet werden. 11/375 (2.9%) Patienten zeigten eine Entzündungsreaktion auf dem Boden einer anderen, nicht virusassoziierten Kardiomyopathie. In der Kontrollgruppe konnte keine inflammatorische Kardiomyopathie festgestellt werden.

Die logistische Regression zeigte, dass der positive Nachweis von PVB19 im Patientenkollektiv, unabhängig von der kardialen Grunderkrankung, mit einem 1.7 fachen Risiko einer inflammatorischen Kardiomyopathie einhergeht (OR 1.7, 95% KI 1.2-2.4). Im Speziellen fand sich eine signifikante Korrelation mit der Diagnose einer borderline Myokarditis ($P < 0.0003$). Bei Patienten mit der histologischen Diagnose einer DCM war der Nachweis von PVB19 hochsignifikant mit dem Auftreten einer zusätzlichen Entzündung (DCMi) assoziiert ($P = 0.0003$). Beim Vergleich der Patienten mit kardialer Grunderkrankung gegenüber kardial gesunden Individuen der Kontrollgruppe erhöhte sich bezüglich PVB19 das Risiko für eine Myokarditis erheblich (OR 12.2, 95% KI 1.2-221.8). Der Nachweis von HHV6 korrelierte hingegen invers mit dem Auftreten einer Entzündungsreaktion im Myokard (OR 0.6, 95% KI 0.4-0.9). Patienten mit simultaner Präsenz beider Erreger im Myokard zeigten eine inflammatorische Kardiomyopathie in geringerer Häufigkeit als Patienten mit Nachweis nur von PVB19.

Es konnte gezeigt werden, dass die Präsenz von PVB19 Einfluss auf das klinische Bild des Patienten hat. Die Häufigkeit, mit der bereits klinisch die Diagnose einer inflammatorischen Kardiomyopathie gestellt wurde, korrelierte signifikant mit dem Nachweis nur von PVB19 ($P < 0.0003$). Der Nachweis nur von HHV6 hatte keinen Einfluss auf die klinische Diagnose ($P = 0.54$). Der simultane Nachweis beider Erreger zeigte ebenfalls eine signifikante Korrelation mit der klinischen Diagnose, die jedoch geringer ausgeprägt war als bei Nachweis nur von PVB19 ($P = 0.04$).

Die Analyse der klinischen Parameter Erkrankungsdauer, Grad der Herzinsuffizienz nach NYHA sowie der Ejektionsfraktion konnte in dieser Stichprobe in Abhängigkeit vom Virusnachweis keine Unterschiede aufdecken.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit haben gezeigt, dass PVB19 eindeutig als kardiotroper Erreger einzuordnen ist und bei Patienten mit kardialer Grunderkrankung einen erheblichen Risikofaktor für die Entstehung einer inflammatorischen Kardiomyopathie darstellt. Zudem ist die Präsenz von PVB19 mit dem klinischen Bild einer inflammatorischen Kardiomyopathie assoziiert. Die pathogenetische Bedeutung von HHV6 kann, auch in Anlehnung an die Literatur, nicht abschließend beurteilt werden. Die hier ermittelten Ergebnisse weisen auf einen, zumindest lokal wirksamen, immunsuppressiven Effekt des Erregers hin. Dies würde die hier gefundene Beobachtung einer geringeren Ausprägung der morphologischen und klinischen Auswirkungen bei Patienten mit simultaner Präsenz von PVB19 und HHV6 erklären. Insbesondere bezüglich der molekularen Interaktion von PVB19 und HHV6 sind weitere Untersuchungen zu fordern. In Übereinstimmung mit der Literatur konnte festgestellt werden, dass die endomyokardiale Biopsieentnahme bei klinischem Verdacht auf eine inflammatorische Kardiomyopathie unverzichtbar ist, um den Patienten einer ätiologisch orientierten Diagnostik und Therapie zuführen zu können.

6 Literatur

- [1] Human parvovirus B19 infections in United Kingdom 1984-86.
Lancet, **1**, 738-739
- [2] Adams, O., Krempe, C., Kogler, G., Wernet, P., Scheid, A. (1998)
Congenital infections with human herpesvirus 6.
J. Infect. Dis., **178**, 544-546
- [3] Anderson, M.J., Jones, S.E., Fisher-Hoch, S.P., Lewis, E., Hall, S.M., Bartlett, C.L., Cohen, B.J., Mortimer, P.P., Pereira, M.S. (1983)
Human parvovirus, the cause of erythema infectiosum (fifth disease) ?
Lancet, **1**, 1378
- [4] Anderson, M.J., Higgins, P.G., Davis, L.R., Willman, J.S., Jones, S.E., Kidd, I.M., Pattison, J.R., Tyrrell, D.A. (1985)
Experimental parvoviral infection in humans.
J. Infect. Dis., **152**, 257-265
- [5] Ardehali, H., Quasim, A., Cappola, T., Howard, D., Hruban, R., Hare, J.M., Baughman, K.L., Kasper, E.K. (2004)
Endomyocardial biopsy plays a role in diagnosing patients with unexplained cardiomyopathy.
Am. Heart. J., **147**, 919-923
- [6] Aretz, H.T. (1987)
Myocarditis: the Dallas criteria.
Hum. Pathol., **18**, 619-624
- [7] Arnold, G., Kaiser, C., Fischer, R. (1985)
Myofibrillar degeneration - a common type of myocardial lesion and its selective identification by a modified luxol fast blue stain.
Path. Res. Pract., **180**, 405-415
- [8] Asano, Y., Yoshikawa, T., Suga, S., Kobayashi, I., Nakashima, T., Yazaki, T., Kajita, Y., Ozaki, T. (1994)
Clinical features of infants with primary human herpesvirus 6 infection (exanthem subitum, roseola infantum).
Pediatrics, **93**, 104-108
- [9] Atkinson, J.B., Virmani, R. (1991)
The endomyocardial biopsy: Techniques, indications and limitations.
In: Virmani, R., Atkinson, J.B., Fenoglio, J.J. (Hrsg.): *Cardiovascular Pathology*.
WB Saunders Company, S. 203-243

- [10] Azzi, A., Morfini, M., Mannucci, P.M. (1999)
The transfusion-associated transmission of parvovirus B19.
Transfus. Med. Rev., **13**, 194-204
- [11] Baasner, A., Dettmeyer, R., Graebe, M., Rissland, J., Madea, B. (2003)
PCR-based diagnosis of enterovirus and parvovirus B19 in paraffin-embedded heart tissue of children with suspected sudden infant death syndrome.
Lab. Invest., **83**, 1451-1455
- [12] Barah, F., Vallely, P.J., Chiswick, M.L., Cleator, G.M., Kerr, J.R. (2001)
Association of human parvovirus B19 infection with acute meningoencephalitis.
Lancet, **358**, 729-730
- [13] Benirschke, K., Kaufmann, P. (2000)
Erythroblastosis and hydrops fetalis.
In: Benirschke, K., Kaufmann, P. (Hrsg.): *Pathology of the human placenta*.
Springer, Berlin, Heidelberg, New York, S. 114-117
- [14] Bowles, N.E., Ni, J., Kearney, D.L., Pauschinger, M., Schultheiss, H.P.,
McCarthy, R., Hare, J., Bricker, J.T., Bowles, K.R., Towbin, J.A. (2003)
Detection of viruses in myocardial tissues by polymerase chain reaction. Evidence of adenovirus as a common cause of myocarditis in children and adults.
J. Am. Coll. Cardiol., **42**, 466-472
- [15] Brown, K.E., Anderson, S.M., Young, N.S. (1993)
Erythrocyte P antigen: cellular receptor for B19 parvovirus.
Science, **262**, 114-117
- [16] Brown, K.E., Hibbs, J.R., Gallinella, G., Anderson, S.M., Lehman, E.D.,
McCarthy, P., Young, N.S. (1994)
Resistance to parvovirus B19 infection due to lack of virus receptor (erythrocyte P antigen).
N. Engl. J. Med., **330**, 1192-1196
- [17] Bültmann, B.D., Klingel, K., Sotlar, K., Bock, C.T., Baba, H.A., Sauter, M.,
Kandolf, R. (2003 a)
Fatal parvovirus B19-associated myocarditis clinically mimicking ischemic heart disease: an endothelial cell-mediated disease.
Hum. Pathol., **34**, 92-95
- [18] Bültmann, B.D., Klingel, K., Sotlar, K., Bock, C.T., Kandolf, R. (2003 b)
Parvovirus B19: a pathogen responsible for more than hematologic disorders.
Virchows Arch., **442**, 8-17
- [19] Bültmann, B.D., Sotlar, K., Klingel, K. (2004)
Parvovirus B19.
N. Engl. J. Med., **350**, 2006-2007

- [20] Buob, A., Siaplaouras, S., Janzen, I., Schwaab, B., Hammer, B., Schneider, G., Kandolf, R., Böhm, M., Jung, J. (2003)
Focal parvovirus B19 myocarditis in a patient with Brugada syndrome.
Cardiol. Rev., **11**, 45-49
- [21] Calabrese, F., Thiene, G. (2003)
Myocarditis and inflammatory cardiomyopathy: microbiological and molecular biological aspects.
Cardiovasc. Res., **60**, 11-25
- [22] Campadelli-Fiume, G., Mirandola, P., Menotti, L. (1999)
Human herpesvirus 6: an emerging pathogen.
Emerg. Infect. Dis., **5**, 353-366
- [23] Caruso, A., Rotola, A., Comar, M., Favilli, F., Galvan, M., Tosetti, M., Campello, C., Caselli, E., Alessandri, G., Grassi, M., Garrafa, E., Cassai, E., Di Luca, D. (2002)
HHV-6 infects human aortic and heart microvascular endothelial cells, increasing their ability to secrete proinflammatory chemokines.
J. Med. Virol., **67**, 528-533
- [24] Caserta, M.T., McDermott, M.P., Dewhurst, S., Schnabel, K., Carnahan, J.A., Gilbert, L., Lathan, G., Lofthus, G.K., Hall, C.B. (2004)
Human herpesvirus 6 (HHV6) DNA persistence and reactivation in healthy children.
J. Pediatr., **145**, 478-484
- [25] Cassinotti, P., Siegl, G., Michel, B.A., Bruhlmann, P. (1998)
Presence and significance of human parvovirus B19 DNA in synovial membranes and bone marrow from patients with arthritis of unknown origin.
J. Med. Virol., **56**, 199-204
- [26] Chan, P.K., Ng, H.K., Cheng, A.F. (1999)
Detection of human herpesviruses 6 and 7 genomic sequences in brain tumours.
J. Clin. Pathol., **52**, 620-623
- [27] Chan, P.K., Ng, H.K., Hui, M., Cheng, A.F. (2001)
Prevalence and distribution of human herpesvirus 6 variants A and B in adult human brain.
J. Med. Virol., **64**, 42-46
- [28] Chia, J.K., Jackson, B. (1996)
Myopericarditis due to parvovirus B19 in an adult.
Clin. Infect. Dis., **23**, 200-201

- [29] Chipman, P.R., Agbandje-McKenna, M., Kajigaya, S., Brown, K.E., Young, N.S., Baker, T.S., Rossmann, M.G. (1996)
Cryo-electron microscopy studies of empty capsids of human parvovirus B19 complexed with its cellular receptor.
Proc. Natl. Acad. Sci., **93**, 7502-7506
- [30] Chisaka, H., Morita, E., Yaegashi, N., Sugamura, K. (2003)
Parvovirus B19 and the pathogenesis of anaemia.
Rev. Med. Virol., **13**, 347-359
- [31] Chorba, T., Coccia, P., Holman, R.C., Tattersall, P., Anderson, L.J., Sudman, J., Young, N.S., Kurczynski, E., Saarinen, U.M., Moir, R. (1986)
The role of parvovirus B19 in aplastic crisis and erythema infectiosum (fifth disease).
J. Infect. Dis., **154**, 383-393
- [32] Cone, R.W., Huang, M.L., Ashley, R., Corey, L. (1993)
Human herpesvirus 6 DNA in peripheral blood cells and saliva from immunocompetent individuals.
J. Clin. Microbiol., **31**, 1262-1267
- [33] Cooling, L.L., de Zhang, S., Nades, S.J., Koerner, T.A. (2003)
Glycosphingolipid expression in acute nonlymphocytic leukemia: common expression of shiga toxin and parvovirus B19 receptors on early myeloblasts.
Blood, **101**, 711-721
- [34] Corman, L.C., Dolson, D.J. (1992)
Polyarteritis nodosa and parvovirus B19 infection.
Lancet, **339**, 491
- [35] Cossart, Y.E., Field, A.M., Cant, B., Widdows, D. (1975)
Parvovirus-like particles in human sera.
Lancet, **1**, 72-73
- [36] 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, **85**, 499–504
- [37] De Bolle, L., Van Loon, J., De Clercq, E., Naesens, L. (2005 a)
Quantitative analysis of human herpesvirus 6 cell tropism.
J. Med. Virol., **75**, 76–85
- [38] De Bolle, L., Naesens, L., De Clercq, E. (2005 b)
Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features, and therapy.
Clin. Microbiol. Rev., **18**, 217-245

- [39] Deguchi, H., Hayashi, T., Kotaka, M., Nakayama, Y., Kitaura, Y., Kawamura, K. (1987)
In situ analysis with monoclonal antibodies of lymphocyte subsets in myocardial biopsies from patients with dilated cardiomyopathy and idiopathic (viral) myocarditis.
Jpn. Circ. J., **51**, 1365-1372
- [40] Di Luca, D., Mirandola, P., Ravaioli, T., Bigoni, B., Cassai, E. (1996)
Distribution of HHV-6 variants in human tissues.
Infect. Agents Dis., **5**, 203-214
- [41] Donoso Mantke, O., Nitsche, A., Meyer, R., Klingel, K., Niedrig, M. (2004)
Analysing myocardial tissue from explanted hearts of heart transplant recipients and multi-organ donors for the presence of parvovirus B19 DNA.
J. Clin. Virol., **31**, 32-39
- [42] Drago, F., Semino, M., Rampini, P., Rebora, A. (1999)
Parvovirus B19 infection associated with acute hepatitis and a purpuric exanthem.
Br. J. Dermatol., **141**, 160-161
- [43] Dux, S., Lentini, S., Bock, C.T., Klingel, K., Kandolf, R., Bauriedel, G. (2002)
Parvovirus B19-Myokarditis eines jungen Erwachsenen nach abakterieller Meningitis.
Dtsch. Med. Wochenschr., **127**, 1584-1588
- [44] Eis-Hübinger, A.M., Reber, U., Abdul-Nour, T., Glatzel, U., Lauschke, H., Putz, U. (2001)
Evidence for persistence of parvovirus B19 DNA in livers of adults.
J. Med. Virol., **65**, 402-407
- [45] Enders, G., Dotsch, J., Bauer, J., Nutzenadel, W., Hengel, H., Haffner, D., Schallasta, G., Searle, K., Brown, K.E. (1998)
Life-threatening parvovirus B19-associated myocarditis and cardiac transplantation as possible therapy: two case reports.
Clin. Infect. Dis., **26**, 355-358
- [46] Enders, M., Weidner, A., Zoellner, I., Searle, K., Enders, G. (2004)
Fetal morbidity and mortality after acute human parvovirus B19 infection in pregnancy: prospective evaluation of 1018 cases.
Prenat. Diagn., **24**, 513-518
- [47] Eriksson, U., Ricci, R., Hunziker, L., Kurrer, M.O., Oudit, G.Y., Watts, T.H., Sonderegger, I., Bachmaier, K., Kopf, M., Penninger, J.M. (2003)
Dendritic cell-induced autoimmune heart failure requires cooperation between adaptive and innate immunity.
Nat. Med., **9**, 1484-1490

- [48] Finkel, T.H., Török, T.J., Ferguson, P.J., Durigon, E.L., Zaki, S.R., Leung, D.Y., Harbeck, R.J., Gelfand, E.W., Saulsbury, F.T., Hollister, J.R, et al. (1994)
Chronic parvovirus B19 infection and systemic necrotising vasculitis: opportunistic infection or aetiological agent ?
Lancet, **343**, 1255-1258
- [49] Flamand, L., Gosselin, J., Stefanescu, I., Ablashi, D., Menezes, J. (1995)
Immunosuppressive effect of human herpesvirus 6 on T-cell functions: suppression of interleukin-2 synthesis and cell proliferation.
Blood, **85**, 1263-1271
- [50] Frickhofen, N., Abkowitz, J.L., Safford, M., Berry, J.M., Antunez-de-Mayolo, J., Astrow, A., Cohen, R., Halperin, I., King, L., Mintzer, D. (1990)
Persistent B19 parvovirus infection in patients infected with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1): a treatable cause of anemia in AIDS.
Ann. Intern. Med., **113**, 926-933
- [51] Fujioka, S., Kitaura, Y., Deguchi, H., Shimizu, A., Isomura, T., Suma, H., Sabbah, H.N. (2004)
Evidence of viral infection in the myocardium of American and Japanese patients with idiopathic dilated cardiomyopathy.
Am. J. Cardiol., **94**, 602-605
- [52] Fukae, S., Ashizawa, N., Morikawa, S., Yano, K. (2000)
A fatal case of fulminant myocarditis with human herpesvirus-6 infection.
Intern. Med., **39**, 632-636
- [53] Gompels, U.A., Nicholas, J., Lawrence, G., Jones, M., Thomson, B.J., Martin, M.E., Efsthathiou, S., Craxton, M., Macaulay, H.A. (1995)
The DNA sequence of human herpesvirus-6: structure, coding content, and genome evolution.
Virology, **209**, 29-51
- [54] Gompels, U.A. (2000)
Human Herpesvirus 6 and 7.
In: Zuckerman, A.J., Banatvala, J.E., Pattison, J.R. (Hrsg.): *Principles and Practice of Clinical Virology*. John Wiley & Sons Ltd., S. 141-165
- [55] Hall, C.B., Long, C.E., Schnabel, K.C., Caserta, M.T. McIntyre, K.M., Costanzo, M.A., Knott, A., Dewhurst, S., Insel, R.A., Epstein, L.G. (1994)
Human herpesvirus-6 infection in children. A prospective study of complications and reactivation.
N. Engl. J. Med., **331**, 432-438

-
- [56] Hashimoto, H., Maruyama, H., Fujimoto, K., Sakakura, T., Seishu, S., Okuda, N. (2002)
Hematologic findings associated with thrombocytopenia during the acute phase of exanthem subitum confirmed by primary human herpesvirus-6 infection.
J. Pediatr. Hematol. Oncol., **24**, 211-214
- [57] Heegaard, E.D., Laub Peterson, B. (2000)
Parvovirus B19 transmitted by bone marrow.
Br. J. Haematol., **111**, 659-661
- [58] Heegaard, E.D., Brown, K.E. (2002 a)
Human parvovirus B19.
Clin. Microbiol. Rev., **15**, 485-505
- [59] Heegaard, E.D., Laub Petersen, B.L., Heilmann, C.J., Hornsleth, A. (2002 b)
Prevalence of parvovirus B19 and parvovirus V9 DNA and antibodies in paired bone marrow and serum samples from healthy individuals.
J. Clin. Microbiol., **40**, 933-936
- [60] Hillingso, J.G., Jensen, I.P., Tom-Petersen, L. (1998)
Parvovirus B19 and acute hepatitis in adults.
Lancet, **351**, 955-956
- [61] Hoang, M.P., Ross, K.F., Dawson, D.B., Scheuermann, R.H., Rogers, B.B. (1999)
Human herpesvirus-6 and sudden death in infancy: report of a case and review of literature.
J. Forensic Sci., **44**, 432-437
- [62] Höfler, H. (1999)
Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Pathologie. Leitlinien Diagnostische Molekulare Pathologie. Deutsche Gesellschaft für Pathologie.
Pathologie, **20**, 306-307
- [63] Holm, S. (1979)
A simple sequentially rejective multiple test procedure.
Scand. J. Stat., **6**, 65-70
- [64] Hrobon, P., Kuntz, K.M., Hare, J.M. (1998)
Should endomyocardial biopsy be performed for detection of myocarditis ?
J. Heart Lung Transplant., **17**, 479-486
- [65] Hufnagel, G., Pankuweit, S., Richter, A., Schonian, U., Maisch, B. (2000)
The european study of epidemiology and treatment of cardiac inflammatory diseases (ESETCID). First epidemiological results.
Herz, **25**, 279-285

- [66] Kandolf, R. (1995)
Molekulare Pathogenese der Enterovirusmyokarditis. Viruspersistenz und chronische Entzündung.
Internist, **36**, 430-438
- [67] Kandolf, R. (2004)
Virusätiologie der inflammatorischen Kardiomyopathie.
Dtsch. Med. Wochenschr., **129**, 2187-2192
- [68] Karetnyi, Y.V., Beck, P.R., Markin, R.S., Langnas, A.N., Naides, S.J. (1999)
Human parvovirus B19 infection in acute fulminant liver failure.
Arch. Virol., **144**, 1713-1724
- [69] Kariyawasam, H.H., Gyi, K.M., Hodson, M.E., Cohen, B.J. (2000)
Anaemia in lung transplant patients caused by parvovirus B19.
Thorax, **55**, 619-620
- [70] Kishimoto, C., Shioji, K., Kinoshita, M., Iwasw, T., Tamaki, S., Fujii, M., Murashige, A., Maruhashi, H., Takeda, S., Nonogi, H., Hashimoto, T. (2003)
Treatment of acute inflammatory cardiomyopathy with intravenous immunoglobulin ameliorates left ventricular function associated with suppression of inflammatory cytokines and decreased oxidative stress.
Int. J. Cardiol., **91**, 173-178
- [71] Klein, R.M., Jiang, H., Niederacher, D., Adams, O., Du, M., Horlitz, M., Schley, P., Marx, R., Lankisch, M.R., Brehm, M.U., Strauer, B.E., Gabbert, H.E., Scheffold, T., Gulker, H. (2004)
Frequency and quantity of the parvovirus B19 genome in endomyocardial biopsies from patients with suspected myocarditis or idiopathic left ventricular dysfunction.
Z. Kardiol., **93**, 300-309
- [72] Klingel, K., Hohenadl, C., Canu, A., Albrecht, M., Seemann, M., Mall, G., Kandolf, R. (1992)
Ongoing enterovirus-induced myocarditis is associated with persistent heart muscle infection: quantitative analysis of virus replication, tissue damage and inflammation.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **89**, 314-318
- [73] Klingel, K., Sauter, M., Bock, C.T., Szalay, G., Schnorr, J.J., Kandolf, R. (2004)
Molecular pathology of inflammatory cardiomyopathy.
Med. Microbiol. Immunol., **193**, 101-107
- [74] Koch, W.C., Massey, G., Russell, C.E., Adler, S.P. (1990)
Manifestations and treatment of human parvovirus B19 infection in immunocompromised patients.
J. Pediatr., **116**, 355-359

- [75] Koch, W.C. (2001)
Fifth (human parvovirus) and sixth (herpes virus 6) diseases.
Curr. Opin. Infect. Dis., **14**, 343-356
- [76] Kondo, K., Kondo, T., Okuno, T., Takahashi, M., Yamanishi, K. (1991)
Latent human herpesvirus 6 infection of human monocytes/macrophages.
J. Gen. Virol., **72**, 1401-1408
- [77] Kühl, U., Pauschinger, M., Bock, T., Klingel, K., Schwimmbeck, C.P., Seeberg, B., Krautwurm, L., Poller, W., Schultheiss, H.P., Kandolf, R. (2003)
Parvovirus B19 infection mimicking acute myocardial infarction.
Circulation, **108**, 945-950
- [78] Kühl, U., Pauschinger, M., Noutsias, M., Seeberg, B., Bock, T., Lassner, D., Poller, W., Kandolf, R., 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**, 887-893
- [79] Lamparter, S., Schoppet, M., Pankuweit, S., Maisch, B. (2003)
Acute parvovirus B19 infection associated with myocarditis in an immunocompetent adult.
Hum. Pathol., **34**, 725-728
- [80] Levy, J.A., Ferro, F., Greenspan, D., Lennette, E.T. (1990)
Frequent isolation of HHV-6 from saliva and high seroprevalence of the virus in the population.
Lancet, **335**, 1047-1050
- [81] Lotze, U., Egerer, R., Tresselt, C., Glück, B., Dannenberg, G., Stelzner, A., Figulla, H.R. (2003)
Frequent detection of parvovirus B19 genome in the myocardium of adult patients with idiopathic dilated cardiomyopathy.
Med. Microbiol. Immunol., **193**, 75-82
- [82] Luttichau, H.R., Clark-Lewis, I., Jensen, P.O., Moser, C., Gerstoft, J., Schwartz, T.W. (2003)
A highly selective CCR2 chemokine agonist encoded by human herpesvirus 6.
J. Biol. Chem., **278**, 10928-10933
- [83] Maisch, B. (1997)
Report of the 1997 World Health Federation Expert Committee on the definition of the inflammatory cardiomyopathy (Myocarditis)

- [84] Maisch, B., Bültmann, B., Factor, S. (1999)
World heart federation consensus conference's definition of inflammatory cardiomyopathy (myocarditis): report from two expert committees on histology and viral cardiomyopathy.
Heartbeat, **4**, 3-4
- [85] Maisch, B., Portig, I., Ristic, A., Hufnagel, G., Pankuweit, S. (2000)
Definition of inflammatory cardiomyopathy (myocarditis): on the way to consensus. A status report.
Herz, **25**, 200-209
- [86] Maisch, B., Funcker, R., Alter, P., Portig, I., Pankuweit, S. (2002)
Dilatative Kardiomyopathie und Myokarditis - Aktuelle diagnostische Erfordernisse und therapeutische Möglichkeiten.
Internist, **43**, 45-65 (Suppl. 1)
- [87] Malm, C., Fridell, E., Jansson, K. (1993)
Heart failure after parvovirus B19 infection.
Lancet, **341**, 1408-1409
- [88] Marchand, S., Tchernia, G., Hiesse, C., Tertian, G., Cartron, J., Kriaa, F., Boubenider, S., Goupy, C., Lecointe, D., Charpentier, B. (1999)
Human parvovirus B19 infection in organ transplant recipients.
Clin. Transplant., **13**, 17-24
- [89] Margo, C.M., Dawood, M.R., Crowson, A.N. (2000)
The cutaneous manifestations of human parvovirus B19 infection.
Hum. Pathol., **31**, 488-497
- [90] Mason, J.W. (2003)
Myocarditis and dilated cardiomyopathy: an inflammatory link.
Cardiovasc. Res., **60**, 5-10
- [91] Modrow, S. (2001)
Parvovirus B19. Ein Infektionserreger mit vielen Erkrankungsbildern.
Dt. Aerztebl., **98**, 1620-1624
- [92] Moffatt, S., Yaegashi, N., Tada, K., Tanaka, N., Sugamura, K. (1998)
Human parvovirus B19 nonstructural (NS1) protein induces apoptosis in erythroid lineage cells.
J. Virol., **72**, 3018-3028
- [93] Moore, T.L. (2000)
Parvovirus-associated arthritis.
Curr. Opin. Rheumatol., **12**, 289-294

- [94] Morey, A.L., Porter, H.J., Keeling, J.W., Fleming, K.A. (1992)
Non-isotopic in situ hybridisation and immunophenotyping of infected cells in the investigation of human fetal parvovirus infection.
J. Clin. Pathol., **45**, 673-678
- [95] Munro, K., Croxson, M.C., Thomas, S., Wilson, N.J. (2003)
Three cases of myocarditis in childhood associated with human parvovirus (B19 virus).
Pediatr. Cardiol., **24**, 473-475
- [96] Murry, C.E., Jerome, K.R., Reichenbach, D.D. (2001)
Fatal parvovirus myocarditis in a 5-year-old girl.
Hum. Pathol., **32**, 342-345
- [97] Musiani, M., Zerbini, G., Gentilomi, G., Plazzi, M., Gallinella, G., Venturoli, S. (1995)
Parvovirus B19 clearance from peripheral blood after acute infection.
J. Infect. Dis., **172**, 1360-1363
- [98] Nakazawa, T., Tomosugi, N., Sakamoto, K., Asaka, M., Yuri, T., Ishikawa, I., Kitagawa, S. (2000)
Acute glomerulonephritis after human parvovirus B19 infection.
Am. J. Kidney Dis., **35**, 31
- [99] Nigro, G., Bastianon, V., Colloridi, V., Ventriglia, F., Gallo, P., D'Amati, G., Koch, W.C., Adler, S.P. (2000)
Human parvovirus B19 infection in infancy associated with acute and chronic lymphocytic myocarditis and high cytokine levels: report of 3 cases and review.
Clin. Infect. Dis., **31**, 65-69
- [100] Norbeck, O., Tolfvenstam, T., Shields, L.E., Westgren, M., Broliden, K. (2004)
Parvovirus B19 capsid protein VP2 inhibits hematopoiesis in vitro and in vivo: implications for therapeutic use.
Exp. Hematol., **32**, 1082-1087
- [101] Noutsias, P., Pauschinger, M., Poller, W.C., Schultheiss, H.P., Köhl, U. (2004)
Immunomodulatory treatment strategies in inflammatory cardiomyopathy: current status and future perspectives.
Expert. Rev. Cardiovasc. Ther., **2**, 37-51
- [102] Ohashi, M., Ihira, M., Suzuki, K., Suga, S., Asano, Y., Yoshikawa, T., Saito, Y., Sakui, H. (2001)
Transfer of human herpesvirus 6 and 7 antibodies from mothers to their offspring.
Pediatr. Infect. Dis. J., **20**, 449-450

- [103] Orth, T., Herr, W., Spahn, T., Voigtlander, T., Michel, D., Mertens, T., Mayet, W.J., Dippold, W., Meyer zum Buschenfelde, K.H. (1997)
Human parvovirus B19 infection associated with severe acute perimyocarditis in a 34-year-old man.
Eur. Heart J., **18**, 524-525
- [104] Ozawa, K., Ayub, J., Kajigaya, S., Shimada, T., Young, N. (1988)
The gene encoding the nonstructural protein of B19 (human) parvovirus may be lethal in transfected cells.
J. Virol., **62**, 2884-2889
- [105] Pamidi, S., Friedman, K., Kampalath, B., Eshoa, C., Hariharan, S. (2000)
Human parvovirus B19 infection presenting as persistent anemia in renal transplant recipients.
Transplantation, **69**, 2666-2669
- [106] Pankuweit, S., Hufnagel, G., Eckhardt, H., Herrmann, H., Uttecht, S., Maisch, B. (1998)
Kardiotrope DNA-Viren und Bakterien in der Pathogenese der dilatativen Kardiomyopathie mit und ohne Entzündung.
Med. Klin., **93**, 223-228
- [107] Pankuweit, S., Portig, I., Eckhardt, H., Crombach, M., Hufnagel, G., Maisch, B. (2000)
Prevalence of viral genome in endomyocardial biopsies from patients with inflammatory heart muscle disease.
Herz, **25**, 221-226
- [108] Pankuweit, S., Moll, R., Baandrup, U., Portig, I., Hufnagel, G., Maisch, B. (2003)
Prevalence of the parvovirus B19 genome in endomyocardial biopsy specimens.
Hum. Pathol., **34**, 497-503
- [109] Pankuweit, S., Lamparter, S., Funck, R., Maisch, B. (2004)
Herzmuskelbiopsiegesteuerte Diagnostik und Therapie bei entzündlicher Kardiomyopathie.
Dtsch. Med. Wochenschr., **129**, 2169-2172
- [110] Papadogiannakis, N., Tolfvenstam, T., Fischler, B., Norbeck, O., Broliden, K. (2002)
Active, fulminant, lethal myocarditis associated with parvovirus B19 infection in an infant.
Clin. Infect. Dis., **35**, 1027-1031
- [111] Pattison, J.R., Jones, S.E., Hodgson, J., Davis, L.R., White, J.M., Stroud, C.E., Murtaza, L. (1981)
Parvovirus infections and hypoplastic crisis in sickle-cell anemia.
Lancet, **1**, 664-665

- [112] Pattison, J.R. (2000)
Human Parvoviruses.
In: Zuckerman, A.J., Banatvala J.E., Pattison, J.R. (Hrsg.): Principles and Practice of Clinical Virology. John Wiley & Sons Ltd., S. 645-658
- [113] Porter, H.J., Quantrill, A.M., Fleming, K.A. (1988)
B19 parvovirus infection of myocardial cells.
Lancet, **1**, 535-536
- [114] Prezioso, P.J., Cangiarella, J., Lee, M., Nuovo, G.J., Borkowsky, W., Orlow, S.J., Greco, M.A. (1992)
Fatal disseminated infection with human herpesvirus-6.
J. Pediatr., **120**, 921-923
- [115] Prophet, E.B., Mills, B., Arrington, J.B., Sobin, L.H. (1992)
Laboratory methods in histotechnology.
In: Armed forces institute of pathology. American registry of pathology, Washington, D.C
- [116] Rantala, H., Mannonen, L., Ahtiluoto, S., Linnavuori, K., Herva, R., Vaheri, A., Koskiniemi, M. (2000)
Human herpesvirus-6 associated encephalitis with subsequent infantile spasms and cerebellar astrocytoma.
Dev. Med. Child. Neurol., **42**, 418-421
- [117] Richardson, P., McKenna, W., Bristow, M., Maisch, B., Mautner, B., O'Connell, J., Olsen, E., Thiene, G., Goodwin, J., Gyarfás, I., Martin, I., Nordet, P. (1996)
Report of the 1995 World Health Organisation/International Society and Federation of Cardiology task force on the definition and classification of cardiomyopathies.
Circulation, **93**, 841-842
- [118] Rohayem, J., Dinger, J., Fischer, R., Klingel, K., Kandolf, R., Rethwilm, A. (2001)
Fatal myocarditis associated with acute parvovirus B19 and human herpesvirus 6 coinfection.
J. Clin. Microbiol., **39**, 4585-4587
- [119] Romeis, B. (1989)
In: Böck, P. (Hrsg): Mikroskopische Technik. Urban Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore
- [120] Rotola, A., Di Luca, D., Cassai, E., Ricotta, D., Giulio, A., Turano, A., Caruso, A., Muneretto, C. (2000)
Human herpesvirus 6 infects and replicates in aortic endothelium.
J. Clin. Microbiol., **38**, 3135-3136

- [121] Roush, K.S., Domiati-Saad, R.K., Margraf, L.R., Krisher, K., Scheuermann, R.H., Rogers, B.B., Dawson, D.B. (2001)
Prevalence and cellular reservoir of latent human herpesvirus 6 in tonsillar lymphoid tissue.
Am. J. Clin. Pathol., **116**, 648-654
- [122] Saiki, R.K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K.B., Horn, G.T., Erlich, H.A., Arnheim, N. (1985)
Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia.
Science, **230**, 1350-1354
- [123] Saint-Martin, J., Choulot, J.J., Bonnaud, E., Morinet, F. (1990)
Myocarditis caused by parvovirus.
J. Pediatr., **116**, 1007-1008
- [124] Salahuddin, S.Z., Ablashi, D.V., Markham, P.D., Josephs, S.F., Sturzenegger, S., Kaplan, M., Halligan, G., Biberfeld, P., Wong-Staal, F., Kramarsky, B. (1986)
Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders.
Science, **234**, 596-601
- [125] Santoro, F., Kennedy, P.E., Locatelli, G., Malnati, M.S., Berger, E.A., Lusso, P. (1999)
CD46 is a cellular receptor for human herpesvirus 6.
Cell, **99**, 817-827
- [126] Schleuning, M., Jager, G., Holler, E., Hill, W., Thomssen, C., Denzlinger, C., Lorenz, T., Ledderose, G., Wilmanns, W., Kolb, H.J. (1999)
Human parvovirus B19-associated disease in bone marrow transplantation.
Infection, **27**, 114-117
- [127] Schowengerdt, K.O., Ni, J., Denfield, S.W., Gajarski, R.J., Bowles, N.E., Rosenthal, G., Kearney, D.L., Price, J.K., Rogers, B.B., Schauer, G.M., Chinnock, R.E., Towbin, J.A. (1997)
Association of parvovirus B19 genome in children with myocarditis and cardiac allograft rejection: diagnosis using the polymerase chain reaction.
Circulation, **96**, 3549-3554
- [128] Smith, L.M., Sanders, J.Z., Kaiser, R.J., Hughes, P., Dodd, C., Connell, C.R., Heiner, C., Kent, S.B., Hood, L.E. (1986)
Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis.
Nature, **321**, 674-679
- [129] Snedecor, G.W., Cochran, W.G. (1989)
In: Snedecor, G.W., Cochran, W.G. (Hrsg.): *Statistical methods*. Iowa State University Press, Ames, Iowa

- [130] Sokal, E.M., Melchior, M., Cornu, C., Vandenbroucke, A.T. Buts, J.P., Cohen, B.J., Burtonboy, G. (1998)
Acute parvovirus B19 infection associated with fulminant hepatitis of favourable prognosis in young children.
Lancet, **352**, 1739-1741
- [131] Stahl, H.D., Seidl, B., Hubner, B., Altrichter, S., Pfeiffer, R., Pustowitz, B., Liebert, U.G., Hofmann, J., von Salis-Soglio, G., Emmrich, F. (2000)
High incidence of parvovirus B19 DNA in synovial tissue of patients with undifferentiated mono- and oligoarthritis.
Clin. Rheumatol., **19**, 281-286
- [132] Suga, S., Yoshikawa, T., Kajita, Y., Ozaki, T., Asano, Y. (1998)
Prospective study of persistence and excretion of human herpesvirus-6 in patients with exanthem subitum and their parents.
Pediatrics, **102**, 900-904
- [133] Sugimoto, T., Tanaka-Taya, K., Ono, J., Miyoshi, H., Okada, S., Yamanishi, K. (2002)
Human herpesvirus-6 infection in neonates: not protected by only humoral immunity.
Pediatr. Int., **44**, 281-285
- [134] Tabet, J.Y., Lopes, M.E., Champagne, S., Su, J.B., Merlet, P., Hittinger, L. (2002)
Inflammation, cytokines and anti-inflammatory therapies in heart failure.
Arch. Mal. Coeur Vaiss., **95**, 204-212
- [135] Takahashi, K., Sonoda, S., Higashi, K., Kondo, T., Takahashi, H., Takahashi, M., Yamanishi, K. (1989)
Predominant CD4 T-lymphocyte tropism of human herpesvirus 6-related virus.
J. Virol., **63**, 3161-3163
- [136] Takahashi, Y., Murai, C., Shibata, S., Munakata, Y., Ishii, T., Ishii, K., Saitoh, T., Sawai, T., Sugamura, K., Sasaki, T. (1998)
Human parvovirus B19 as a causative agent for rheumatoid arthritis.
Proc. Natl. Acad. Sci., **95**, 8227-8232
- [137] Thorley-Lawson, D.A., Gross, A. (2004)
Persistence of the Epstein-Barr virus and the origins of associated lymphomas.
N. Engl. J. Med., **350**, 1328-1337
- [138] Török, T.J. (1997)
Unusual clinical manifestations reported in patients with parvovirus B19 infection.
In: Anderson, L.J., Young, N.S. (Hrsg.): *Monographs in virology: human parvovirus B19 infection*. Karger, Basel, S. 61-97

- [139] Trapani, S., Ermini, M., Falcini, F. (1999)
Human parvovirus B19 infection: its relationship with systemic lupus erythematosus.
Semin. Arthritis Rheum., **28**, 319-325
- [140] Tsao, J., Chapman, M.S., Agbandje, M., Keller, W., Smith, K., Wu, H., Luo, M., Smith, T.J., Rossmann, M.G., Compans, R.W. (1991)
The three dimensional structure of canine parvovirus and its functional implications.
Science, **251**, 1456-1564
- [141] Tschöpe, C., Bock, C.-T., Kasner, M., Noutsias, M., Westermann, D., Schwimmbeck, P.-L., Pauschinger, M., Poller, W.-C., Kühl, U., Kandolf, R., Schultheiss, H.P. (2005)
High prevalence of cardiac parvovirus B19 infection in patients with isolated left ventricular diastolic dysfunction.
Circulation, **111**, 879-886
- [142] Vallbracht, K.B., Schwimmbeck, P.L., Seeberg, B., Kühl, U., Schultheiss, H.P. (2002)
Endothelial dysfunction of peripheral arteries in patients with immunohistologically confirmed myocardial inflammation correlates with endothelial expression of human leukocyte antigens and adhesion molecules in myocardial biopsies.
J. Am. Coll. Cardiol., **40**, 515-520
- [143] van Wees, J., Stiller, B., Berger, F., Meyer, R., Aepinus, C., Kandolf, R., Lange, P.E. (1999)
Chronisch persistierende Parvovirus-B19-Myokarditis im Kleinkindalter.
Monatsschr. Kinderheilk., **147**, 748-750
- [144] Wang, X., Zhang, G., Han, M., Chao, Q., Xu, D. (1999)
Investigation of parvovirus B19 in cardiac tissue from patients with congenital heart disease.
Chin. Med. J., **112**, 995-997
- [145] Weigel-Kelley, K.A., Yoder, M.C., Srivastava, A. (2003)
 $\alpha 5\beta 1$ integrin as a cellular coreceptor for human parvovirus B19: requirement of functional activation of $\beta 1$ integrin for viral entry.
Blood, **102**, 3927-3933
- [146] Winters, G.L., McMannus, B.M. (2001)
Myokarditis.
In: Silver, M., Gotlieb, A., Schoen, F. (Hrsg.): *Cardiovascular Pathology*. Churchill Livingstone, New York, S. 256-284

-
- [147] Yamanishi, K., Okuno, T., Shiraki, K., Takahashi, M., Kondo, T., Asano, Y. (1988)
Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthema subitum.
Lancet, **1**, 1065-1067
- [148] Yoshida, M., Uno, F., Bai, Z.L., Yamada, M., Nu, S., Sata, T., Kurata, T., Yamanishi, K., Takahashi, M. (1989)
Electron microscopic study of a herpes-type virus isolated from an infant with exanthem subitum.
Microbiol. Immunol., **33**, 147-154
- [149] Yoshikawa, T., Ihira, M., Suzuki, K., Suga, S., Kito, H., Iwasaki, T., Kurata, T., Tanaka, T., Saito, Y., Asano, Y. (2001)
Fatal acute myocarditis in an infant with human herpesvirus 6 infection.
J. Clin. Pathol., **54**, 792-795
- [150] Young, N.S. (1996)
Parvoviruses.
In: Fields, B.N., Knipe, D.M., Chanock, R.M., Hirsch, M.S., Melnick, J.L., Monath, T.P., Roizman, B. (Hrsg.): *Fields Virology*. Lippincott-Raven, Philadelphia, S. 2199-2236
- [151] Young, N.S., Brown, K.E. (2004)
Mechanisms of disease. Parvovirus B19.
N. Engl. J. Med., **350**, 586-597
- [152] Zerr, D.M., Meier, A.S., Selke, S.S., Frenkel, L.M., Huang, M.L., Wald, A., Rhoads, M.P., Nguy, L., Bornemann, R., Morrow, R.A., Corey, L. (2005)
A population-based study of primary human herpesvirus 6 infection.
N. Engl. J. Med., **352**, 768-76

D a n k s a g u n g

Herrn Professor Dr. med. Bültmann möchte ich für die freundliche Bereitstellung des Themas und die Unterstützung bei dieser Arbeit in allen Phasen sowie die Einarbeitung auf dem Gebiet der Kardiopathologie ganz besonders herzlich danken.

Herrn Professor Dr. med. Kandolf bin ich für die Überlassung molekularbiologischer Befunde sowie für die Möglichkeit zur wissenschaftlichen Arbeit in der Abteilung für Molekulare Pathologie zu Dank verpflichtet.

Für die freundliche Überlassung des Untersuchungsmaterials für die Kontrollgruppe gilt mein Dank Herrn Professor Dr. med. Wehner vom Institut für Rechtsmedizin der Universität Tübingen.

Herrn Dr. rer. nat. Bock aus der Abteilung für Molekulare Pathologie der Universität Tübingen möchte ich für die Beratung in Fragen zur molekularbiologischen Methodik und Diagnostik sowie für die Bereitstellung einer elektronenmikroskopischen Aufnahme von PVB19 danken. Ebenso gilt mein Dank Herrn Professor Dr. Yoshida vom Institut für Virologie an der Okayama Medical School in Japan für die freundliche Bereitstellung von elektronenmikroskopischen Aufnahmen von HHV6 und die Genehmigung zum Abdruck in dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Dietz und Frau Dr. Herberts vom Institut für medizinische Biometrie der Universität Tübingen für die Beratung und Unterstützung bei der statistischen Auswertung des umfangreichen Datenmaterials.

Nicht vergessen möchte ich alle anderen Mitarbeiter am Institut für Pathologie der Universität Tübingen die mir bei speziellen Fragestellungen und Problemen stets hilfreich zur Seite standen. Ihnen ein herzliches Dankeschön.

Lebenslauf

23. Dezember 1975 Sascha Thomas Tachlinski, geboren in Albstadt als erstes von drei Kindern der Eheleute Horst Günther Tachlinski und Helene Tachlinski, geb. Bitsch
- 1982 – 1986 Grundschule in Albstadt
- 1986 – 1992 Schloßberg Realschule in Albstadt
- 1992 – 1995 Wirtschaftswissenschaftliches Gymnasium in Albstadt
Erlangung der Allgemeinen Hochschulreife
- 1995 – 1996 Zivildienst bei der Körperbehindertenförderung Neckar-Alb in Mössingen
- 1997 Immatrikulation im Studienfach Humanmedizin an der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen
- 1999 Ärztliche Vorprüfung
- 2000 Erster Abschnitt der Ärztliche Prüfung
- 2002 Wissenschaftliches Praktikum in der Abteilung Molekulare Pathologie am Institut für Pathologie der Universität Tübingen
- 2003 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
- 2003-2004 Praktisches Jahr am Kreiskrankenhaus Sigmaringen und am Piteå älvdals sjukhus in Nordschweden
24. November 2004 Abschluß des Studiums mit dem Dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
01. April 2005 Assistenzarzt in Weiterbildung im Fach Innere Medizin am Kreiskrankenhaus Sigmaringen