

1. Einleitung

Virusinfektionen sind eine häufige Ursache für entzündliche Erkrankungen am menschlichen Herzen, wie z.B. der akuten und chronischen Myokarditis, dilatativen Kardiomyopathie oder der koronaren Herzkrankheit. Daher gelten sie als eine der Hauptursachen bezüglich Morbidität und Mortalität bei kardiovaskulären Erkrankungen, die, laut Aussage des Statistischen Bundesamtes, mit zu den 50 häufigsten Todesursachen in Deutschland zählen: chronische ischämische Herzkrankheit (Platz 1); Herzinsuffizienz (Platz 3); Arteriosklerose (Platz 12); Herzmuskelschwäche (Platz 26). Meist finden derartige Virus-bedingte Herzerkrankungen ihre öffentliche Aufmerksamkeit, wenn vor allem bei prominenten Sportlern von Herzmuskelentzündungen und plötzlichem Herzstillstand berichtet wird: so z.B. der Radprofi Gerd Ausdehm, der aufgrund einer nicht auskurierten viralen Herzmuskelerkrankung zum Pflegefall wurde. Die Behandlung derartiger schwerer Erkrankungen steht häufig in Verbindung mit hohen Krankenhauskosten einschließlich der Kosten für Herztransplantationen als letzte Therapiemaßnahme. Obwohl es in den letzten zehn Jahren dank der Einführung molekularbiologischer Methoden Verbesserungen hinsichtlich der Diagnostik von viralen Herzerkrankungen gegeben hat, finden derartige Nachweismethoden zur Zeit keine breite Anwendung.

Für viele als Ätiologie in Frage kommende virale Erreger gibt es daher nicht genügend Daten hinsichtlich ihrer Prävalenz oder Inzidenz, um ihnen eine direkte Mitwirkung in der Pathogenese einzelner kardiovaskulärer Erkrankungen zuschreiben zu können. Eine ähnliche Problematik stellt sich auch hinsichtlich der Rolle von Virusinfektionen als Ursache von Komplikationen, die nach einer erfolgreichen Herztransplantation oder Verpflanzung humaner Herzklappen (sog. Homografts) auftreten können, wie z.B. Arteriosklerose, koronare Vaskulopathie oder lymphoproliferative Erkrankung, die je nach Schweregrad auch zum Transplantatverlust führen können.

Im Rahmen einer Kooperation zwischen dem Robert Koch-Institut (RKI) und dem Deutschen Herzzentrum Berlin (DHZB) sind daher in der vorliegenden Studie Untersuchungen an Herzgewebe von Herztransplantatempfängern und Herzspendern hinsichtlich des Vorkommens von viralen Genomsequenzen durchgeführt worden, um die Prävalenz einzelner relevanter Erreger zu klären. Die Ergebnisse sollen als Grundlage dienen, um einen Zusammenhang zwischen Virusinfektion und Herz-

krankheit zu verdeutlichen und um vorab die Frage zu klären, ob eine Relevanz hinsichtlich möglicher Konsequenzen für Transplantationen besteht, die in Zukunft weitere Studien zur Bestätigung notwendig macht.

1.1 Anatomie des Herzens

Der Blutkreislauf bildet ein in sich geschlossenes System, bei dem das Blut über ein aus Arterien und Venen bestehendes Gefäßsystem ständig zu allen Punkten des Körpers hin- und rücktransportiert wird. Im Mittelpunkt dieses Transportsystems steht das Herz (*Cor*) als kombinierte „Druck-Saug-Pumpe“, die für die kontinuierliche Strömung und den Rücktransport des Blutes sorgt.

Um den Aufbau des Herzens verstehen zu können, muss man sich zunächst mit dem Kreislaufsystem im menschlichen Körper auseinandersetzen (Abb. 1). Im Wesentlichen sorgen zwei parallel zueinander funktionierende Kreisläufe dafür, dass der gesamte Körper mit Blut versorgt wird (Sommer, 1986).

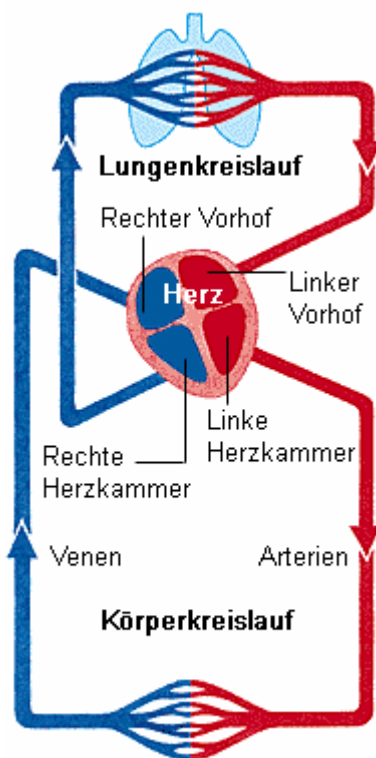


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Herz-Lungen-Kreislaufes. (Quelle: www.medicine-world-wide.de)

Zum einen ist dies ein kleiner Kreislauf, der sog. Lungenkreislauf, und zum anderen der viel größere Körperkreislauf. Die Druckverhältnisse sind ungleich aufgrund der unterschiedlichen Blutmenge, die transportiert wird. Das heißt, dass im Körperkreislauf ein größerer Druck in den Blutgefäßen herrscht als im Lungenkreislauf.

Um in beiden Kreisläufen gleichzeitig Blut fließen zu lassen, ist das Herz (Abb. 2) durch eine schrägverlaufende Herzscheidewand (Septum) in zwei Hälften geteilt, die linke und rechte Herzhälfte. Jede Hälfte besteht aus einem Vorhof (Atrium), dem Blut aus Venen zugeführt wird, und einer Kammer (Ventriculus), die das Blut aus dem Vorhof aufnimmt und in

eine Arterie pumpt. Die Bezeichnungen „Venen“ und „Arterien“ richten sich nicht nach der Beschaffenheit des Blutes, sondern nach der Blutstromrichtung in den Gefäßen. Gefäße, die das Blut herzwärts führen, heißen Venen, ganz gleich, ob sie „arterielles“ (sauerstoffreiches) oder „venöses“ (sauerstoffarmes) Blut enthalten. Das Umgekehrte gilt für Arterien (Sommer, 1986).

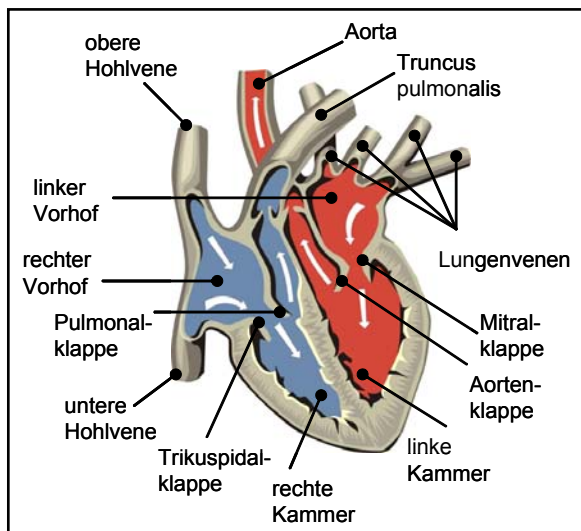


Abbildung 2: Schema der Unterteilung des Herzens. Die Pfeile zeigen die Blutstromrichtung an. (aus: www.medizinus.de)

Der rechte Vorhof erhält venöses Blut aus dem Körper über die beiden großen Hohlvenen und aus dem Herzen selbst über die Herzkranzvene. Das venöse Blut gelangt dann in die rechte Kammer, die es in die Lungenschlagader (*Truncus pulmonalis*) befördert. Aus den Lungen kehrt das mit

Sauerstoff angereicherte Blut über die Lungenvenen (*Venae pulmonales*) zum Herzen – in den linken Vorhof – zurück und wird durch die linke Kammer in die große Körperschlagader (Aorta) weitergeleitet. Klappen mit Ventilfunktion sorgen dafür, dass das Blut nur in einer Richtung fließt: zum einen Segelklappen an der jeweiligen Vorhof-Kammer-Grenze (Trikuspidal- und Mitralklappe) und zum anderen Taschenklappen an der jeweiligen Kammer-Gefäß-Grenze (Pulmonal- und Aortenklappe).

Die Herzwände bestehen hauptsächlich aus Herzmuskelgewebe (Myokard), dem sich innen eine dünne Bindegewebsschicht mit endothelialer Oberfläche auflegt, die Herzinnenhaut (Endokard). Die Außenschicht wird vom Epikard, dem inneren Blatt des Herzbeutels (Perikard), gebildet. Zwischen Epi- und Myokard verlaufen, in Fettgewebe eingebettet, die Herzkranzgefäße. Die Klappen sind muskelfreie Duplikaturen der Herzinnenhaut. Entzündungen des Endokards befallen vorzugsweise die Klappen und können zu Herzklappenfehlern führen (Sommer, 1986).

Von allen oben erwähnten Herzschichten nimmt das Myokard eine besondere Stellung ein, da es nicht nur für die Kontraktion und Pumpleistung des Herzens verantwortlich ist, sondern auch das herzeigene Erregungsbildungs- und -leitungssystem enthält. Darüber hinaus ist es maßgeblich für die Größe und Gestalt des Herzens.

Entsprechend den unterschiedlichen Drücken, die von den vier Abteilungen (zwei Vorhöfen/zwei Kammern) des Herzens zur Beförderung des Blutes aufgebracht werden müssen, ist das Myokard unterschiedlich entwickelt (Abb. 3).

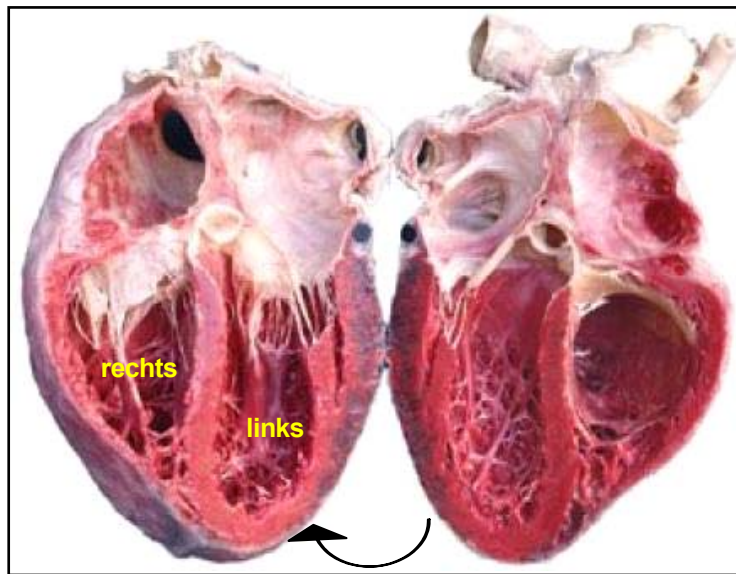


Abbildung 3:

Plastinat der Herzkammern als Schnittmodell.

Die unterschiedlichen Wandstärken sind gut erkennbar.

(Bild: Institut für Plastination, Heidelberg)

Die dünnste Muskelschicht haben die Vorhöfe (1-3 mm), aus denen die Kammern das Blut mehr ansaugen, als dass es von der Vorhofmuskulatur kam-

merwärts gepumpt werden müsste. Die rechte Kammer hat nur den Widerstand der Lungenstrombahn zu überwinden, die linke hingegen den wesentlich größeren des Körperkreislaufs. Diese Unterschiede spiegeln sich in der Wandstärke der Kammern wider (Abb. 3): Die Myokardschicht des linken Ventrikels (10-30 mm) ist wesentlich kräftiger ausgebildet als die des rechten (5-10 mm).

Die Kammermuskulatur bildet in ihrer Gesamtheit je ein Schraubensystem mit unterschiedlichen Steigungswinkeln, so dass bei Kontraktion jede Kammer sowohl im Längs- als auch im Querdurchmesser abnimmt. Eine stärkere Blutfüllung des Herzens kann zu bleibender Erweiterung (Dilatation) der Hohlräume und Zunahme der Wandmuskulatur führen, wie sie bei Schwerarbeitern und Sportlern (sog. Arbeits- oder Aktivitätshypertrophie – als Anpassung an eine physiologisch funktionelle Mehrbelastung), aber auch bei Menschen mit Herzfehlern (Herzhypertrophie bei pathologischer Druck- oder Volumenbelastung des Herzens) vorkommen. Auf chronische

Mehrbelastung reagiert das Herz mit morphologischen Veränderungen. Die Muskelmasse vermehrt sich durch Dickenzunahme der einzelnen Herzmuskelzellen und adaptiert sich so an die andauernde Mehrbeanspruchung. Wenn die Blutversorgung mit der Vermehrung der Muskulatur nicht mehr Schritt halten kann, kommt es in Folge von Ernährungsstörungen zu Myokardschäden. Der geschädigte Herzmuskel kann seine Funktionen nicht mehr voll erfüllen, so dass Zeichen der Herzinsuffizienz (Herzschwäche) auftreten: geringe körperliche Belastbarkeit, Stauungserscheinungen im Kreislauf, die mit Blaufärbung der Lippen und der Gesichtshaut (Zyanose), Schwellungen (Ödemen) der Beine und Atemnot (Dyspnoe) einhergehen (Sommer, 1986).

1.2 Erkrankungen des Herzens

Die Herzinsuffizienz ist das weltweit häufigste kardiale Erkrankungsbild mit mehreren Millionen Patienten. Die Gesamtprävalenz klinischer Fälle wird auf 3 bis 20 Fälle pro 1000 Einwohner geschätzt. Die Zahl der Neuerkrankungen ist bei Männern höher als bei Frauen und steigt mit zunehmendem Alter an. Die Letalität hierbei beträgt 20 bis 60 % pro Jahr (McMurray und Stewart, 2000).

Der Begriff Herzinsuffizienz bezeichnet eine Situation, in der das Herz aufgrund einer Störung der eigenen Funktion oder einer Störung seiner „Arbeitsbedingungen“ innerhalb des Herz-Kreislauf-Systems nicht in der Lage ist, Blut in der Menge oder Geschwindigkeit durch den Körper zirkulieren zu lassen, die die Stoffwechsel- und Energiebedürfnisse der Organe und Körpergewebe befriedigt (Schettler und Greten, 1998). Die Herzinsuffizienz stellt somit keine eigenständige Erkrankung dar, sondern umfasst einen durch pathologische hämodynamische Veränderungen hervorgerufenen Symptomenkomplex, der seine Ursache in allen Anteilen des Herz-Kreislauf-Systems (Herz, periphere Blutgefäße, zirkulierendes Blutvolumen) oder anderen körpereigenen Regelsystemen (z.B. vegetatives Nervensystem) haben kann. Die Diagnose „Herzinsuffizienz“ ist daher erst der Ausgangspunkt zur differentialdiagnostischen Klärung zugrunde liegender Ursachen. Zu den Ursachen mit primär myokardialer Schädigung gehören unter anderem die Myokarditis (mit akuter Symptomatik), die dilatative Kardiomyopathie sowie die koronare Herzkrankheit (jeweils mit

chronischer Symptomatik), für die unter anderem auch Viren als infektiöse Agentien beschrieben worden sind [siehe Kap. 1.3], und deren Charakteristika im Folgenden kurz dargestellt werden.

1.2.1 Die Myokarditis

Als Myokarditis wird eine Entzündung des Herzmuskelgewebes mit Myozytennekrose, Ödembildung und Gefügedilatation bezeichnet, die häufig das Endokard und/oder Epi- bzw. Perikard mit einbezieht (AWMF-Leitlinie Nr. 023/025). Ursache können viele Faktoren sein, die entweder nach einer infektiösen oder nicht-infektiösen Ätiologie eingeteilt werden (Tab. 1).

Tabelle 1: Ursachen einer Myokarditis.

Infektiöse Ätiologie	Beispiele
Viren	Enteroviren, insbesondere Coxsackie-B-, seltener Coxsackie-A- und Echoviren
Bakterien	bei Sepsis oder Bakteriämie, Mykobakterien, Spirochäten (Leptospirose, Lyme-Erkrankung)
Rickettsien	Q-Fieber
Pilze	bei Abwehrschwäche (Aspergillose, Aktinomykose, Candidiasis)
Protozoen	z.B. <i>Trypanosoma cruzi</i> als Erreger der in Südamerika häufigen Chagas-Krankheit
Nicht-infektiöse Ätiologie	Beispiele
Kollagenosen und Immunkomplex-Vaskulopathien	Mitbeteiligung von Myokard und/oder Gefäßen
toxisch	z.B. Diphtherie, Kokain, hochdosierte Katecholamine
Hypersensitivitätsreaktion	auf Medikamente
Riesenzell-Myokarditis	tritt in 30 % der Transplantate neu auf
Sarkoidose	entzündliche Erkrankung des mesenchymalen Gewebes
Abstoßungsreaktion	nach Herztransplantation

aus: Schettler und Greten, 1998.

Die häufigste Form stellt die Virusmyokarditis dar. Maisch et al. (2003) berichten, dass bei bis zu 50 % der Patienten mit einer aktiven Myokarditis unter anderem enterovirale Genomstrukturen – Coxsackie-B-Viren, seltener Coxsackie-A- und Echoviren – in Myokardbiopsien nachgewiesen werden konnten.

Eine akute Virusmyokarditis tritt meist im Rahmen einer allgemeinen (systemischen) Virusinfektion (grippaler Infekt oder Magen-Darm-Erkrankung) auf und verläuft meist asymptomatisch. Das Spektrum der Beschwerden ist hierbei breit und die Ausprägung sehr unterschiedlich: Leistungsminderung, Ermüdbarkeit, Schwäche, grippeähnliche Beschwerden mit oder ohne Fieber, gelegentlich dem akuten Myokardinfarkt ähnelndes Krankheitsbild usw. Aufgrund der oft unsicheren Diagnose – die meisten Befunde (z.B. Entzündungsparameter, EKG-Veränderungen) sind nur bei sehr ausgeprägten Formen vorhanden – ist die Virusmyokarditis epidemiologisch schwer fassbar; hier besteht eine hohe Dunkelziffer! Man vermutet jedoch, dass bei Virusinfektionen in 1 % bis 5 % der Fälle eine kardiale Mitbeteiligung vorkommt (Schettler und Greten, 1998). Ein immunhistochemischer bzw. molekularbiologischer Nachweis viraler Erreger in Endomyokardbiopsien wäre für eine bessere Diagnostik notwendig. Die akute Virusmyokarditis verläuft meist gutartig, da in 70 % der Fälle eine rasche Ausheilung auftritt (Spontanremission). In 20 % der Fälle kommt es zu einer sog. Defektheilung mit eingeschränkter Pumpfunktion des Herzens. Ein Übergang in eine chronische Verlaufsform ist möglich, bei der als potenzielles Endstadium eine dilatative Kardiomyopathie mit progressiver Herzinsuffizienz angenommen wird (die Häufigkeit ist umstritten). Ein fulminanter Verlauf der Myokarditis mit therapieresistenter Herzinsuffizienz, die innerhalb weniger Tage letal ist, tritt eher selten auf. Als Risikogruppen für eine akute Virusmyokarditis werden vorwiegend jüngere Männer, schwangere Frauen, Kinder (vor allem Neugeborene) und immungeschwächte Personen genannt (Symposium: Virale Herzerkrankungen, Jena, 19.09. bis 21.09.2002).

1.2.2 Die dilatative Kardiomyopathie

Die dilatative Kardiomyopathie (DKMP) ist von der Weltgesundheitsorganisation als eine Herzmuskelerkrankung definiert, die zur Dilatation und eingeschränkten systolischen Funktion (verminderte Auswurfleistung) des linken Ventrikels oder beider

Ventrikel führt (Richardson et al., 1996). Die Ätiologie der DKMP kann unterschiedlicher Natur sein – idiopathisch, familiär/genetisch, viral und/oder immunologisch usw. (Tab. 2). Sie kann aber auch in Verbindung mit einer anderen kardiovaskulären Erkrankung entstehen, bei der der Grad der myokardialen Dysfunktion durch eine gestörte Ventrikelbefüllung (Abgrenzung gegenüber der restriktiven Kardiomyopathie) oder der Ausbreitung einer ischämischen Schädigung (Abgrenzung gegenüber der ischämischen Kardiomyopathie) nicht erklärbar ist.

Tabelle 2: Ursachen einer DKMP.

Ätiologie	Häufigkeit
1. Idiopathisch (ohne erkennbare Ursache)	40%
2. Familiär/genetisch (überwiegend autosomal-dominant vererbt)	25%
3. Infektiös Myokarditis	10-30 %*
HIV	4%
4. Toxisch Alkohol	3%
Anthrazykline	1%
Kokain	1%
5. Infiltrativ z.B. Amylo-/Sarkoidose, Hämochromatose	6%
6. peripatale DKMP	5%
7. Kollagenosen	4%
8. Endokrine Ursachen z.B. Hyper-/Hypothyreose, Phäochromozytom	1%

Die Angaben stammen von Osterziel et al. (2001) nach Ausschluss von Patienten mit arterieller Hypertonie, koronarer Herzerkrankung, Herzklappenerkrankungen und restriktiver Kardiomyopathie.

* Angaben aus Symposium: Virale Herzerkrankungen, Jena, 2002.

Weltweit leiden ca. 22 Millionen Patienten (meist über 55 Jahre alt und männlich) an einer DKMP. Die jährliche Inzidenz der DKMP in westlichen Industriestaaten liegt bei ca. sechs bis acht/100 000 Einwohnern, die Prävalenz beträgt ca. 36/100 000 Einwohnern (Dec und Fuster, 1994; Cowie et al., 1999). Obwohl keine genauen epidemiologischen Daten vorliegen, ist anzunehmen, dass die Häufigkeit in der Bundesrepublik Deutschland ähnlich ist. Mit 750 Millionen Euro Krankenhauskosten ist die DKMP die die meisten Kosten verursachende Erkrankung in Deutschland überhaupt

und 8- bis 30-mal teurer im Spätstadium als im Frühstadium (Symposium: Virale Herzerkrankungen, Jena, 19.09. bis 21.09.2002). In über 70 % aller Fälle manifestiert sich die DKMP durch Symptome und Zeichen einer Herzinsuffizienz. Sie stellt mit einem Anteil von 18 % bis 28 % eine der Hauptursachen der Herzinsuffizienz dar. Das häufigste initiale Symptom (bei ca. 88 % der Patienten) ist Atemnot bei Belastung. Bei etwa 25 % der Patienten tritt Angina pectoris auf und in 14 % geht der Diagnose eine ungeklärte kurze Bewusstlosigkeit voraus. Die mittlere Überlebenserwartung bei symptomatischen Patienten liegt bei ca. 5 Jahren (Dec und Fuster, 1994). Der Verlauf der DKMP ist jedoch sehr variabel. Die Lebenserwartung scheint auch von der Ätiologie der DKMP abzuhängen, denn Patienten mit DKMP infolge z.B. einer infiltrativen Herzmuskelerkrankung oder einer Myokarditis weisen trotz therapeutischer Intervention eine signifikant schlechtere Prognose (mit nur 50-60 % Überlebensrate) auf als Patienten mit einer idiopathischen DKMP (Symposium: Virale Herzerkrankungen, Jena, 19.09. bis 21.09. 2002).

1.2.3 Die koronare Herzkrankheit

Unter einer koronaren Herzkrankheit (KHK) versteht man stenosierende Veränderungen des Herzkranzgefäßsystems auf dem Boden einer Arteriosklerose, die zu einem Missverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und Sauerstoffangebot im abhängigen Herzmuskelareal führen können. Die KHK ist ein multifaktoriell bedingtes Krankheitsbild, das die Koronararterien isoliert oder diffus befällt und unterschiedlich schnell verläuft. Schweregrad und Dauer der Ischämie (mangelnde Durchblutung) bestimmen den folgenden Verlauf in Form von Angina pectoris, ischämisch bedingter Herzinsuffizienz, Herzrhythmusstörungen und akutem Myokardinfarkt (AWMF-Leitlinie Nr. 019/001).

Die KHK stellt die häufigste Todesursache in den industrialisierten Ländern dar. Sie tritt am häufigsten ab dem 5. Lebensjahrzehnt auf und nimmt bei Frauen nach der Menopause zu (Schettler und Greten, 1998). Das Risiko einer KHK steigt bei mehreren gleichzeitigen Risikofaktoren und mit dem Ausmaß ihrer Ausprägungen an. Durch Veränderung des Lebensstils, Ernährungsumstellung und medikamentöse Therapie beeinflussbare Risikofaktoren (Plasmaplipide und Lipoproteine, Bluthochdruck, Zigarettenkonsum, Diabetes mellitus, Übergewicht, erhöhtes Fibrinogen usw.)

können von unbeeinflussbaren (Alter, Geschlecht, Familienanamnese usw.) unterschieden werden (Kannel et al., 1961). Aufgrund dieser zahlreichen gut dokumentierten, nicht-infektiösen Risikofaktoren der KHK wurde die Hypothese der Infektionsgenese der KHK (Osler, 1985) in den letzten Jahrzehnten nicht mehr weiter verfolgt. Neuere Erkenntnisse [siehe Kap. 1.3.2] der letzten Jahre rufen jedoch die alten Konzepte einer infektiösen Komponente wieder in Erinnerung (Danesh et al., 1997; Ellis, 1997; Gupta und Camm, 1998a; Gupta und Camm, 1998b; Lamb und Ferns, 1999; Meier, 1999; Smith et al., 1999; Epstein et al., 2000; Leinonen und Saikku, 2000; Morré et al., 2000; Pellicano et al., 2000; Wierzbicki und Hagemeyer, 2000; Shoenfeld et al., 2001; Chen et al., 2003; Madjid et al., 2004).

Die Dynamik des Verlaufs einer KHK hängt davon ab, in welchem Ausmaß bestehende Koronarverengungen (Stenosen) zu einer Reduktion des arteriellen Blutflusses und damit der Sauerstoffzufuhr im abhängigen Myokardareal führen. Über Jahre hinweg asymptomatische Verlaufsformen oder lange Phasen einer gleich bleibenden Symptomatik sind ebenso möglich wie eine lange Progression der Symptomatik. Auch können durch Aufbrechen instabiler sog. atheromatöser Plaques oder Thrombusablagerungen bedingte Phasen schneller Beschwerdeprogression mit „Stillständen“ abwechseln. Auch ohne vorausgehende Warnsymptome (Angina pectoris, Atemnot, Leistungsknick usw.) kann ein akutes koronares Ischämiesyndrom (z.B. Myokardinfarkt) auftreten: Bis zu 50 % der Patienten, die ihren ersten Myokardinfarkt erleiden, haben nie zuvor Angina pectoris gehabt (Schettler und Greten, 1998).

Nach dem akuten Infarkt ereignis läuft ein Prozess des sog. Remodelling ab: Als Anpassung an die vermehrte Belastung reagieren die gesunden Myokardanteile mit Hypertrophie, während noch eine Ausdehnung des Infarktgebietes eintritt. In der Frühphase sind subakute Komplikationen (z.B. Ventrikelperforation) möglich. Ohne Behandlung kann es danach im Verlauf von Monaten bis Jahren durch Dilatation des Ventrikels zu einer manifesten Herzinsuffizienz kommen (5 Jahre: ca. 15 %; 10 Jahre: ca. 20 % der Patienten). Die Prognose wird durch Reinfarkte, letale Herzrhythmusstörungen oder Progression der Herzinsuffizienz bestimmt (Schettler und Greten, 1998).

1.3 Virale Ursachen und Pathogenese entzündlicher Herzerkrankungen

Die Erkenntnisse bezüglich der pathogenetischen Mechanismen der akuten Myokarditis und damit assoziierter chronischer Herzmuskelerkrankungen (chronische Myokarditis/DKMP) sowie der Arteriosklerose/KHK wurden in den vergangenen Jahrzehnten ständig erweitert. Dennoch bestehen teilweise zu einzelnen Hauptaspekten noch Unstimmigkeiten, insbesondere hinsichtlich der direkten Virus-induzierten Zytolyse, der Viruspersistenz und der viralen Immunpathogenese bzw. Autoimmunität. In der Aufklärung der pathogenetischen Mechanismen spielen Infektionsstudien im Tiermodell (in der Maus) eine tragende Rolle, obwohl noch nicht endgültig bewiesen ist, dass die Ergebnisse hieraus auch Relevanz für Herzerkrankungen beim Menschen haben. Trotzdem bildet die Aufklärung der pathogenetischen Mechanismen bei viralen Herzerkrankungen eine der Voraussetzungen für die Entwicklung spezifischer Therapiemaßnahmen [siehe Kap. 1.4]. Im Folgenden wird kurz der bisherige Kenntnisstand der viralen Ursachen, Faktoren und möglichen Modelle – insbesondere für Enteroviren und Parvovirus B19 bei der viralen Myokarditis/DKMP sowie für das humane Zytomegalievirus bei der Arteriosklerose/KHK – der pathogenetischen Mechanismen für entzündliche Herzerkrankungen wiedergegeben.

1.3.1 Ätiologie und Pathogenese der Virus-induzierten Myokarditis und DKMP

Ätiologisch und pathogenetisch wichtige Hinweise für die Viruspathogenese der Myokarditis/DKMP lassen sich vor allem aus kontrollierten *in situ* Hybridisierungsstudien unter Einbeziehung histologischer und immunhistologischer Parameter, aber auch aus Untersuchungen mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) ableiten (Baboonian und Treasure, 1997; Klingel, 2002; Maisch et al., 2003). Dabei wurden die Enteroviren (EV) – insbesondere Coxsackieviren der Gruppe B (Typ 1 bis 5), aber auch verschiedene Coxsackieviren der Gruppe A und Echoviren (Typ 1, 6, 9, 19, 21) – sowie Adenoviren (ADV) aus der Subgruppe C (Typ 2 und 5) als häufig vorkommende kardiotope Erreger im menschlichen Herzen identifiziert (Martin et al., 1994; Griffin et al., 1995; Martino et al., 1995; Baboonian und Treasure, 1997; Lozinski et al., 1994; Pauschinger et al., 1999a).

Neben diesen sind weitere Erreger als Faktoren einer möglichen viralen Ätiologie für entzündliche Myokarditis/DKMP beschrieben worden: Hepatitis-C-Virus – vornehmlich in Japan (Matsumori et al., 2000), Herpesviren wie das Epstein-Barr-Virus (Herbert et al., 1995), HHV-6 (Fukae et al., 2000), Herpes simplex Virus (Martin et al., 1994; Griffin et al., 1995), Zytomegalievirus (HCMV) (Martin et al., 1994; Griffin et al., 1995; Schönian et al., 1995), HIV (Hershkowitz et al., 1994; Barbaro et al., 1998; Bowles et al., 1999), Influenza A und B Virus (Giles und Shuttleworth, 1957; Karjalainen et al., 1980; Ray et al., 1989), Mumpsvirus (Ni et al., 1997), Rubellavirus (Thanopoulos et al., 1989) und zunehmend Parvovirus B19 (PVB19) (Schowengerdt et al., 1997; Enders et al., 1998; Nigro et al., 2000; Pankuweit et al., 2003; Donoso Mantke et al., 2004a).

Meta-Analysen deuten zwar immer mehr auf einen Zusammenhang zwischen den Erregern und Herzmuskelentzündungen hin, sie zeigen aber auch, dass häufig noch einzelne Prävalenzen mit einem großen Unsicherheitsfaktor behaftet sind, da viele Nachweisstudien mit kleinen Probenzahlen durchgeführt wurden (Klingel, 2002; Maisch et al., 2003). Dabei kann die Häufigkeit des Nachweises einer Virus-induzierten Herzmuskelerkrankung beträchtlich schwanken und beispielsweise zwischen 1 % und 83 % liegen (Tabelle 3). Die Studie zur vorliegenden Dissertation sollte zu einer Klärung der bisher unsicheren Prävalenzangaben insbesondere für EV, ADV, HCMV, PVB19 und Influenzaviren beitragen, um den ätiologischen Zusammenhang zwischen Virusinfektion und Herzkrankheit zu verdeutlichen. Tabelle 3 zeigt zum Vergleich für einige der oben erwähnten Erreger eine Auswertung aus verschiedenen Studien.

Tabelle 3: Nachweis viraler Nukleinsäuren mittels PCR in verschiedenen Studien.

Virus	Diagnose	PCR positiv	Autoren
EV	DKMP	21/55 (38 %)	Rey et al., 2001
	DKMP	9/26 (35 %)	Fujioka et al., 2000
	DKMP	9/21 (43 %)	Archard et al., 1998
	DKMP	11/19 (58 %)	Andreoletti et al., 1996
	DKMP	7/42 (17 %)	Ueno et al., 1995
	DKMP	4/53 (8 %)	Giacca et al., 1994
	DKMP	6/19 (32 %)	Schwaiger et al., 1993
	DKMP	6/50 (12 %)	Keeling et al., 1992
	DKMP	30/45 (67 %)	Petitjean et al., 1992
	Myokarditis	18/45 (40 %)	Pauschinger et al., 1999b
	Myokarditis	4/5 (80 %)	Ueno et al., 1995
	Myokarditis	5/6 (83 %)	Nicholson et al., 1995
	Myokarditis	2/10 (20 %)	Hilton et al., 1993
ADV	Herzinsuffizienz	12/94 (13 %)	Pauschinger et al., 1999a
	AIDS	6/32 (19 %)	Bowles et al., 1999
	Myokarditis	15/38 (40 %)	Martin et al., 1994
HCMV	AIDS	3/32 (9 %)	Bowles et al., 1999
	DKMP	13/64 (20 %)	Schönian et al., 1995
	Myokarditis	1/38 (3 %)	Martin et al., 1994
PVB19	DKMP	3/13 (23 %)	Pankuweit et al., 2003
	Myokarditis	3/360 (0,8 %)	Schowengerdt et al., 1997

Hinsichtlich der Pathogenese wird vermutet, dass unabhängig von der Virusart stets ein ähnlicher mehrstufiger Prozess abläuft, der zur Schädigung der Herzmuskulatur führt (P. Muir, Symposium „Viruses and cardiovascular disease“, XIIth International Congress of Virology, Paris, 27.07. bis 01.08.2002). Demnach befallen über die Blutbahn in das Herz verschleppte Viren die Herzmuskelzellen und replizieren darin. Manche Erreger wie das am häufigsten nachgewiesene Coxsackievirus B3 induzieren bei einer akuten Infektion die Zelllyse; sie schädigen das Gewebe also direkt. Andere stören die physiologischen Vorgänge in den Myozyten so stark, dass diese ihre Funktion nicht mehr zu erfüllen vermögen. Des Weiteren setzen die Viren Abwehrreaktionen in Gang, in deren Verlauf Zytokine freigesetzt werden. Diese Bo-

tenstoffe können das Herzmuskelgewebe schädigen. Gelegentlich schreitet die Zerstörung am Herzmuskel auch dann fort, wenn die Erreger eliminiert sind oder zumindest nicht mehr replizieren; dann kommen Autoimmunreaktionen in Gang. Die Abwehrzellen greifen anstelle des Erregers nun Strukturen der Herzmuskulatur an (Abb. 4).

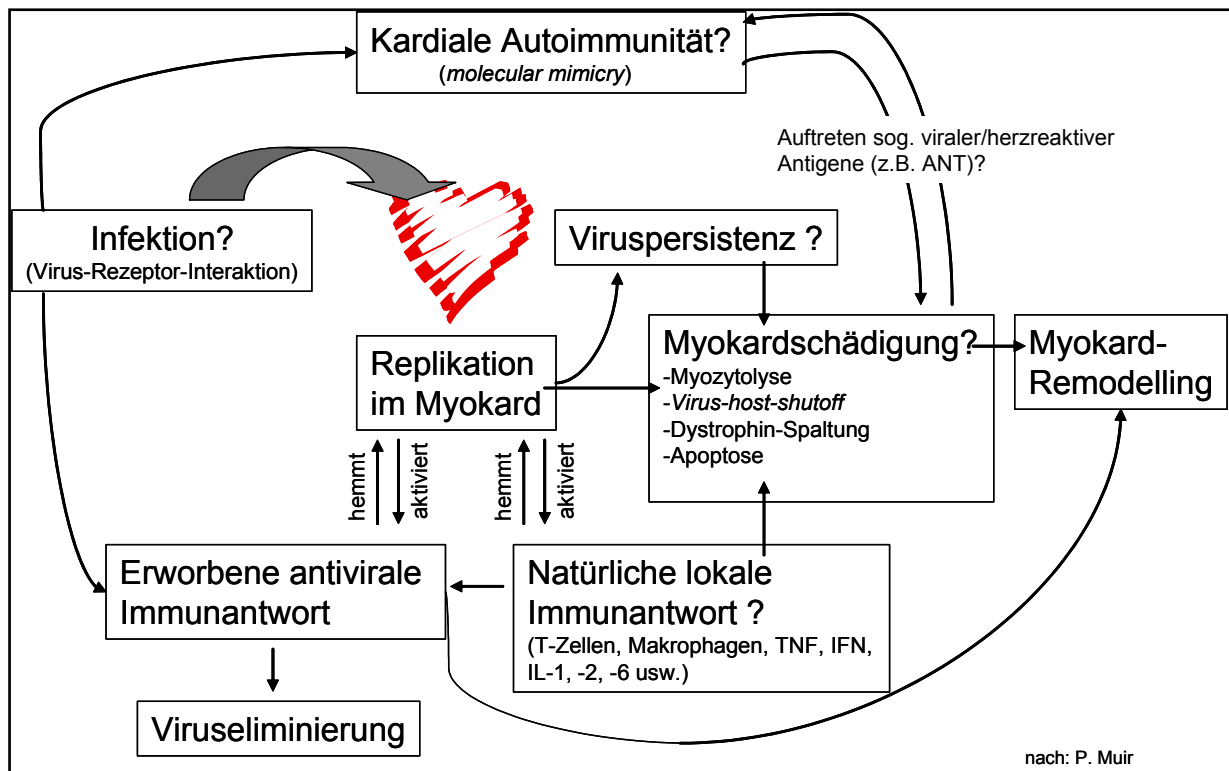


Abbildung 4: Mögliche Mechanismen der viralen Herzmuskelerkrankung.

Das „?“ deutet an, dass hier unter anderem noch Unstimmigkeiten bezüglich der Wirkungsweise besonders hinsichtlich der Entstehung chronischer Verlaufsformen bestehen. TNF: Tumornekrosefaktor; IFN: Interferon; IL: Interleukin; ANT: Adenin-Nukleotid-Translokator.

Spezifische Rezeptoren stellen wichtige Pathogenitätsdeterminanten im Rahmen viraler Infektionen dar. Sie bestimmen nicht nur den Ort der primären Infektion und den Mechanismus der Virusinternalisierung, sondern beeinflussen in der postvirämischen Phase auch die Ausbreitung der Infektion auf weitere Zielorgane und Gewebe. Die Bedeutung der Virus-Rezeptor-Interaktionen als spezifische Virulenzfaktoren und Schlüsselfaktoren im Verständnis der Pathogenese viraler Infektionen wird außerdem dadurch bekräftigt, dass viele Viren mit mehr als einem Rezeptorprotein interagieren können (Modrow et al., 2003).

Es ist auf den ersten Blick erstaunlich, dass zwei so grundlegend verschiedene Virusfamilien wie die humanen Adenoviren und die humanen Enteroviren (vor allem Coxsackie-B-Viren) Myokarditis und DKMP verursachen können. Die Beschreibung des sog. Coxsackie- und Adenovirusrezeptor (CAR), ein 46 kD Transmembranprotein aus der Immunglobulin-Superfamilie, an welchen beide Viren binden können, bot hier letztendlich eine Teilerklärung (Bergelson et al., 1997a; Carson et al., 1997; Tomko et al., 1997; Roelvink et al., 1998).

Interessanterweise scheint die Expression des CAR in Verbindung mit Myokarditis/DKMP erhöht zu sein. Noutsias et al. (2001) berichteten, dass im Gegensatz zu normalen Kardiomyozyten, die eine geringe Expression von CAR aufweisen, in den Herzen von Patienten mit DKMP eine erhöhte CAR-Expression nachweisbar ist. Dabei wird CAR präferenziell in den Glanzstreifen und im Sarkolemma der Herzmuskelzellen exprimiert. Die Hochregulierung der Virusrezeptoren und die Aufnahme der Viren in die Herzmuskelzellen findet daher in einer kritischen Membranregion (sog. *tight junctions*) statt, die für die funktionelle Integrität des Herzmuskels von entscheidender Bedeutung ist (Selinka et al., 2004). Des Weiteren lassen Experimente im Modell der Autoimmun-Myokarditis eine Induktion der CAR-Expression durch inflammatorische Mediatoren vermuten (Ito et al., 2000). Es ist noch nicht geklärt, ob die Induktion von CAR primär durch die Virusinfektion oder vielmehr durch nicht-virale Faktoren, die im weiteren Verlauf einer Infektion entstehen, getriggert wird. Zusätzlich zur Interaktion mit CAR dient einigen Coxsackievirus-B-Serotypen der *decay-accelerating factor* (DAF/CD55), ein 70 bis 80 kD großes Glykosylphosphatidyl-inositol-verankertes Membranprotein der Komplement-Regulatorproteinfamilie, als Korezeptor (Bergelson et al., 1995; Shafren et al., 1995; Martino et al., 1998). Im Gegensatz zu CAR ist der DAF-Rezeptor allein für eine Infektion nicht ausreichend (Shafren et al., 1995; Shafren et al., 1997). Es wird vermutet, dass die Funktion von DAF während der Coxsackievirus-B-Infektion darin besteht, Viruspartikel effizient zu binden, um dadurch die Interaktion mit dem CAR-Protein zu erleichtern (Selinka et al., 2004). DAF wird von vielen Zellen des hämatopoetischen und nicht-hämatopoetischen Systems exprimiert und ist auch in humanen Herzmuskelzellen und im vaskulären Endothel präsent (McNearney et al., 1989; Klingel et al., 1998; Schmidtke et al., 2000). Untersuchungen mit klinischen Isolaten zeigten, dass selbst innerhalb eines Serotyps große Unterschiede bezüglich der Interaktion

mit CAR und DAF bestehen. Dies spiegelt sich möglicherweise in der unterschiedlichen Virulenz einzelner Virusvarianten wider – insbesondere finden sich unter klinische Isolaten von Coxsackievirus B überwiegend an DAF-bindenden, hämagglutinierenden Coxsackievirus-B-Stämme (Bergelson et al., 1997b). Selinka et al. (2004) berichteten, dass der DAF-bindende Phänotyp einiger Coxsackievirus-B3-Varianten im Rahmen der Infektion eine funktionelle Relevanz besitzt und eine schnellere Ausbreitung von Zelle zu Zelle vermitteln kann. Eine Wechselwirkung mit DAF könnte von besonderer Bedeutung für die Infektion von Zellen sein, die wenig CAR-Proteine exprimieren. Da bei gleichzeitiger Gabe von CAR- und DAF-spezifischen Antikörpern synergistische inhibitorische Effekte beobachtet werden, wurde die Hypothese eines funktionellen CAR-DAF-Rezeptor-Komplexes untersucht (Pasch et al., 1999; Selinka et al., 2002; Selinka et al., 2004). Martino et al. (1998) berichteten ebenfalls von einer räumlichen Assoziation von CAR und DAF auf der Zelloberfläche, jedoch höchstwahrscheinlich ohne kovalente Bindung der beiden Moleküle.

Zusätzlich zur Replikations-determinierenden regulatorischen Sequenz der 5'-nicht-codierenden Region (5'-NCR) der EV (Tracy et al., 1996; Lee et al., 1997; Dunn et al., 2000; Feuer et al., 2004) scheint in erster Linie die Affinität der Viren zum CAR den Kardiotropismus zu beeinflussen. Bereits kleinste Unterschiede in der Virus-Rezeptor-Wechselwirkung, die die Virusbindung, Virusinternalisierung und Virusausbreitung beeinträchtigen, können die Pathogenese Coxsackievirus-induzierter Erkrankungen entscheidend beeinflussen.

Der unterschiedliche Zelltropismus der kardiotropen Erreger bedingt unterschiedliche pathogenetische Prinzipien, die derzeit für die EV-Myokarditis – hier das „Coxsackievirus-Modell“ der Herzmuskelerkrankung – am besten verstanden sind. Das Virus initiiert den Krankheitsprozess mit Virus-induzierten zytolytischen Veränderungen von Myozyten während der akuten Phase der Virusreplikation (Chow et al., 1992; McCarthy et al., 2000) – unter anderem durch die virusbedingte Abschaltung des Zellstoffwechsels (Modrow et al., 2003), durch Spaltung des muskulären Dystrophins und Änderungen im Zytoskelett bzw. Sarkolemma (Bowles und Vallejo, 2003) sowie durch Induktion apoptotischer Prozesse (Henke et al., 2000; Henke et al., 2001). Die Immunantwort (zytotoxische T-Lymphozyten CD4+/CD8+, Zytokine usw.) kann auch während dieser frühen Phase der Erkrankung zu zusätzlichen Schädigungen von

Myozyten führen (Lane et al., 1992; Matsumori et al., 1994; Yamada et al., 1994; Huber et al., 1999; Binah, 2002). Das Virus kann sodann als persistierendes molekulares Pathogen eine chronische Entzündungsreaktion aufrechterhalten oder aber auch in eine latente Infektion ohne entzündliche Begleitreaktion übergehen (Strauer et al., 2001; Maisch et al., 2003; Mason, 2003; Maier et al., 2004; Wessely, 2004). Bei einer signifikanten Anzahl von Patienten resultiert dieser Vorgang in einem Verlust von Myozyten, in Hypertrophie und Degeneration des kontraktile Apparates mit reaktiver Myokardfibrose bis hin zur Dilatation des Herzmuskels und myokardialer Dysfunktion (Savoia und Oxman, 1990; Dec und Fuster, 1994; Martino et al., 1995; Strauer et al., 2001). Veränderte virale Replikationsstrategien und die Unfähigkeit von Effektoren der lokalen Immunität, persistent infizierte myokardiale Zellen zu eliminieren sowie die Infektion von Immunzellen (B-Lymphozyten und Makrophagen) sind essentielle Mechanismen der Induktion und Aufrechterhaltung einer chronischen Virusmyokarditis (Wessely et al., 1998; Lenzo et al., 2002; Maier et al., 2004; Wessely, 2004). Ebenso wird berichtet, dass während der chronischen Phase die Induktion autoimmunologischer Vorgänge „getriggert“ wird (Latif et al., 1993; Schwimmbeck et al., 1994; Gauntt et al., 1995; Caforio et al., 1996; Davies, 1997; Huber, 1997; Rose, 2000; Caforio et al., 2002; Maisch et al., 2003; Mason, 2003; Maier et al., 2004). Unter anderem kommen hier folgende Autoantigene und Autoantikörper für die fortführende Schädigung von Kardiomyozyten in Frage: ANT/Anti-ANT, welches den mitochondrialen Energiemetabolismus beeinträchtigt (Schulze und Schultheiss, 1995); Myosin/Anti-Myosin, welches die Kontraktionskraft des Herzmuskels vermindert (Caforio et al., 1996); Sarkolemma/ASA sowie Myolemma/AMLA, welche zytolytisch wirken (Maisch et al., 1993). Für eine Vielzahl anderer Autoantigene/Autoantikörper sind die Wirkungsweisen noch unbekannt (Maisch et al., 2003).

Neuere Studien zeigen, dass die Vermehrung, Verbreitung und die Reaktivierung von Coxsackieviren offensichtlich stark vom Zellzyklus der infizierten Zellen abhängt (Liu et al., 2000; Feuer et al., 2002; Luo et al., 2002; Opavsky et al., 2002). Schnell teilende bzw. aktive Zellen fördern eine produktive Infektion, wohingegen die Infektion ruhender Zellen (im G₀-Stadium) – welche am häufigsten im Gewebe von Erwachsenen vorkommen – latent verläuft. Die ruhenden Zellen tragen zwar in sich die potenziell infektiöse RNA, es kommt aber zu keiner oder verminderter Virusproduktion und somit zu keinem Virus-vermittelten zytopathischen Effekt (Feuer et al.,

2004). Anhand von RT-PCR-Studien konnte gezeigt werden, dass die RNA von Coxsackieviren noch für viele Jahre im menschlichen Herzmuskelgewebe persistieren kann (Archard et al., 1998; Fujioka et al., 2000; Li et al., 2000). Eine lang andauernde Persistenz konnte ebenfalls bei Mäusen nach einer Infektion nachgewiesen werden (Tam und Messner, 1999; Reetoo et al., 2000), ohne dass infektiöse Viruspartikel vorhanden waren („nicht-produktive Persistenz“). Die persistierende EV-RNA ist somit für die Erklärung der Entwicklung chronischer Krankheitsverläufe wie z.B. die DKMP als potenzielles Endstadium einer viralen Myokarditis von Bedeutung, wobei die Mechanismen hier insbesondere hinsichtlich der Stabilität des Moleküls noch nicht hinreichend geklärt sind – man vermutet, dass hier eine Konfigurationsänderung der RNA oder eine Stabilisierung mittels viraler bzw. zellulärer Proteine zum Tragen kommt.

Es bleibt festzuhalten, dass es sich bei der chronischen Virusmyokarditis nicht notwendigerweise um eine persistierende virale Infektion handeln muss; eine postvirale Immunpathogenese der Myokardschädigung ohne Virusreplikation konnte auch belegt werden. Zudem kann eine persistierende enterovirale Infektion auch im Stadium der aktiv chronischen Myokarditis zumindest bei einem Teil der Patienten (20 %) noch spontan ausheilen [siehe Kap. 1.2.1].

Neben den EV und ADV, die sich am menschlichen Herzen denselben zellulären Rezeptor teilen, wurden in den letzten Jahren zunehmend Infektionen mit PVB19 als mögliche Ursache einer Myokarditis bei Kindern und Erwachsenen sowie als Ursache einer fokalen oder systemischen Vaskulitis (entzündliche Gefäßwunderkrankung) beschrieben (Orth et al., 1997; Enders et al., 1998; Naides, 1999; von Kaisenberg et al., 2001; Papadogiannakis et al., 2002). Zudem findet sich in der Literatur eine Assoziation mit der Entwicklung einer Kardiomyopathie und dem plötzlichen Herztod (Nigro et al., 2000; Dettmeyer et al., 2003). Dementsprechend ist eine Infektion mit PVB19 des menschlichen Herzens nicht nur bei Myokarditis, sondern auch bei DKMP sowie im transplantierten Herzen nachweisbar (Pankuweit et al., 2003; Klein et al., 2004; Wang et al., 2004, Donoso Mantke et al., 2004a; Schwengerdt et al., 1997; Heegaard et al., 1998). Für das PVB19 konnte gezeigt werden, dass der zelluläre Rezeptor, das Blutgruppenantigen P, neben sich teilenden erythroiden Zellen und Megakaryozyten auch auf der Oberfläche von Endo-

thelzellen und fetalen Myokardzellen vorkommt (Brown et al., 1993). Als überaus wichtig erscheint die Beobachtung, dass PVB19 aufgrund seiner Affinität zu Endothelien eine Mikrozirkulationsstörung des Herzens induzieren kann, die bei einem Teil der Patienten trotz unauffälliger Koronarien mit dem klinischen Zeichen eines Herzinfarktes einhergeht (Bültmann et al., 2003; Kühl et al., 2003). Dabei belegt die Untersuchung PVB19-positiver myokardialer autoptischer Gewebeproben eine ausgedehnte Infiltration des Herzmuskels mit T-Lymphozyten (CD3-positiv) und aktivierten Makrophagen mit fokaler Nekrose/Apoptose von Myozyten (Bültmann et al., 2003). Als histopathologischer Befund erscheint die intravasale Akkumulation, Adhäsion und Penetration von Entzündungszellen in dilatierten intramuralen kleinen Venolen ohne Thrombusbildung mit nachfolgender Entzündung des benachbarten Myokards. Studien mittels *in situ* Hybridisierung (ISH) belegen, dass die PVB19-Infektion hauptsächlich in kleinen intramyokardialen Arterien, Arteriolen und venösen Blutgefäßen stattfindet (Bültmann et al., 2003). Da sich in den ISH sowohl intakte als auch nekrobiotisch veränderte Myozyten sowie die epikardialen Blutgefäße als durchweg Virus-negativ erwiesen, liegt die Vermutung nahe, dass sich die myokardialen Nekrosen bei der akuten PVB19-Myokarditis aufgrund einer hochgradigen Dysfunktion der koronaren Mikrozirkulation erklären lassen. Man nimmt des Weiteren an, dass die PVB19-induzierte DKMP möglicherweise durch Persistenz niedriger Viruslasten zustande kommt, die wiederum immunpathogenetische Prozesse triggert.

1.3.2 Die Virus-induzierte Arteriosklerose und KHK

Entstehen und Verlauf einer KHK werden durch Ausmaß und Verhalten der Koronarverengungen bestimmt, die zu einer Reduktion des arteriellen Blutflusses und damit der Sauerstoffzufuhr im abhängigen Myokardareal führen (Schettler und Greten, 1998). Eine Koronarstenose entsteht initial durch eine Schädigung des Koronarendothels auf dem Boden bestimmter, durch die möglichen Risikofaktoren [siehe Kap. 1.2.3] bedingter, schädigender Ursachen. Es kommt unter Mitwirkung von Adhäsions-Glykoproteinen zum Anhaften von Monozyten bzw. Makrophagen und T-Lymphozyten, die in die Intima (Gefäßinnenwand) einwandern. Durch Akkumulation von Lipiden werden die Makrophagen zu sog. Schaumzellen und bilden zusammen mit T-Zellen und glatten Muskelzellen die arteriosklerotischen Frühläsionen, die sog.

fatty streaks innerhalb der Intima. Nachfolgend tritt eine weitere Zelleinwanderung und eine Proliferation und Veränderung der glatten Muskelzellen unter Bildung einer fibrösen Matrix mit Kollagen und bestimmten Proteoglykanen ein. Es bildet sich eine fibrös-fettige Plaque (Intermediärläsion). Die Schädigung des Endothels führt zu einer Regulationsstörung der koronaren Blutgefäßerweiterung bzw. –verengung: während normale Koronararterien sich bei körperlicher Belastung erweitern, zeigen erkrankte Koronararterien eine Konstriktion und somit eine Zunahme der Einengung. Die unregelmäßige Oberfläche der Gefäßinnenwand führt zu einer Thrombozytenanlagerung und –aktivierung mit Freisetzung von Mediatoren wie Thromboxan und Serotonin. Unter Mitwirkung einer Vielzahl weiterer aus Thrombozyten, Endothel, Makrophagen und glatten Muskelzellen freigesetzter Wachstumsfaktoren entsteht eine fibromuskuläre Plaque, die komplexe Spätläsion, die das Lumen stenosiert. Durch Intimariß und „Aufbrechen“ der komplexen Läsion und nachfolgender Unterblutung der Plaques mit Thrombosierung kann ein partieller (instabile Angina pectoris) oder kompletter Koronarverschluss (Myokardinfarkt) entstehen. Ein Überwiegen „entzündlicher“ Zellen (Makrophagen, T-Lymphozyten) an Entstehungsstellen koronarer Plaquerupturen wurde nachgewiesen (Schettler und Greten, 1998).

Es gibt eine Reihe von Literaturdaten, die darauf hinweisen, dass neben den klassischen Risikofaktoren auch Infektionen, Entzündungs- und Autoimmunreaktionen als Ursachen für die Arteriosklerose/KHK in Frage kommen. Dabei steht eine infektiöse Beteiligung bei der Arteriosklerose/KHK nicht im Widerspruch zur oben dargestellten und bislang akzeptierten Theorie der Atherogenese (Lamb und Ferns, 1999; Morré et al., 2000; Shoenfeld et al., 2001; Madjid et al., 2004). Stetig wächst die Liste der Erreger an, die aufgrund unterschiedlicher Studien in Verdacht stehen, an der Entstehung bzw. Fortsetzung der Plaquebildung beteiligt zu sein (Tab. 4).

Tabelle 4: An der Atherogenese beteiligte Erreger.

Chlamydia pneumoniae
HCMV
Herpes simplex Virus Typ 1 und 2
Helicobacter pylori
Mycoplasma pneumoniae
Porphyromonas gingivalis
Enteroviren
Salmonella typhi
Streptococcus sanguis
Coxsackievirus B
Adenoviren
Mycoplasma gallisepticum
gallines Herpesvirus 2 (Marek'sche Geflügellähme)
Masernvirus
Epstein-Barr-Virus
HIV
Mycoplasma fermentas
Coxiella burnetti
Actinobacillus actinomycetemcomitans
Bacteroides forsythus
Hepatitis-A-Virus
Prevotella intermedia
Influenzavirus

aus: Madjid et al., 2004

Von allen aufgezählten Erregern sind insbesondere für das HCMV und die obligat intrazellulär wachsenden Bakterien der Gattung *Chlamydia* die Hinweise aus unterschiedlichen Studien bezüglich einer Beteiligung an der Atherogenese am stärksten (Morré et al., 2000).

Die Rolle von HCMV für die Entstehung der Arteriosklerose wurde anhand experimenteller Tiermodelle, immunhistochemischer Studien zum Nachweis von viralen Partikeln und Genprodukten im Gewebe, seroepidemiologischer Studien und *in vitro*-Studien bezüglich der Interaktion zwischen HCMV und für die Arteriosklerose relevanten Zellen gezeigt (Übersicht in Morré et al., 2000).

Der beschleunigende Effekt der Plaquebildung von Herpesviren wurde erstmalig anhand des gallinen Herpesvirus Typ 2 in Hühnern gezeigt, welches unter anderem die sog. Marek'sche Geflügellähme auslöst. Hierbei wurde insbesondere der Cholesterintransfer in die Arterienwand gestört und die Arteriosklerose induziert, die nach Impfung der Tiere gegen dieses Virus nicht mehr auftrat (Ellis, 1997; Lamb und

Ferns, 1999; Fabricant und Fabricant, 1999). In CMV-infizierten BALB/c-Mäusen konnten virale Antigene im Arterienendothel und in glatten Muskelzellen nachgewiesen werden, begleitet von der Anlagerung entzündlicher Zellen, wie es für eine arteriosklerotische Frühläsion typisch ist (Berensci et al., 1998). Hier wurden als Ursache eine Virus-induzierte Immunantwort und Konzentrationserhöhung von LDL-Cholesterin im Blutserum zu Grunde gelegt. Des Weiteren wurden in Ratten mittels CMV-Infektion Endothelschäden, eine erhöhte Adhäsion von Leukozyten und Akkumulation von Lipiden im vaskulären Endothelium verursacht (Bruggeman, 2000; Kloover et al., 2000).

Die Präsenz von HCMV in humanen atheromatösen Plaques wurde belegt durch histologische Studien, immunhistochemischen Nachweis von viralen Antigenen sowie den Nachweis von genomischer DNA und RNA (Genexpression) mittels Amplifikationstechnik (Hendrix et al., 1990). Allgemein stellte sich hierbei heraus, dass sensitivere Techniken wie die Nukleinsäure-Amplifikation in bis zu 90 % aller Proben Virus nachgewiesen haben, während weniger sensitive Methoden im Virusnachweis eher versagten (Gulizia et al., 1995). Wichtig ist dabei festzuhalten, dass die Abwesenheit von sichtbarem Virusantigen die Bedeutung von HCMV für die Entstehung und Entwicklung der Krankheit nicht widerlegt, da das Virus latent vorkommen kann und durch wenig sensitive Methoden wie z.B. die Immunhistochemie nicht nachweisbar ist. Das Virus ist dennoch in der Lage, eine lokale Immunantwort auszulösen oder die endotheliale Funktion benachbarter Endothelzellen zu verändern (Bruggeman et al., 1999).

Eine Reihe von Daten aus *in vitro* Studien weisen darauf hin, dass HCMV die Zellen infizieren kann, die für eine Arteriosklerose relevant sind: glatte Muskelzellen, Endothelzellen und „entzündliche“ Zellen wie Monozyten und Makrophagen. HCMV-infizierte vaskuläre glatte Muskelzellen zeigen veränderte Funktionen, die in der frühen Phase der Erkrankung von Bedeutung sein könnten. Zum Beispiel produzieren HCMV-infizierte glatte Muskelzellen reaktive Sauerstoffmoleküle, die einen Induktionsfaktor für pro-inflammatorische Zytokine und Chemokine aktivieren, das NF- κ B (Speir et al., 1998). HCMV-infizierte Endothelzellen zeigen wiederum eine erhöhte Expression zahlreicher Oberflächenmoleküle, die an der Adhäsion von Leukozyten beteiligt sind: ICAM-1, VCAM-1, VAP-1, E-Selectin und MHC-Klasse-1-Antigene (van

Dorp et al., 1989; Kloover et al., 2000; Martelius et al., 2000), und außerdem an der Präsenz von Chemokinen: RANTES und MCP-1. Die Infektion induziert die Einwanderung entzündlicher Zellen an die Orte der Chemokinbildung. Dieser Prozess ermöglicht die Akkumulation von entzündlichen Zellen, Lipid-beladenden Makrophagen und die Bildung einer interzellulären Matrix, was zur Bildung einer atheromatösen Läsion führt (Valantine, 2003). Ein virales Chemokin, das US28, ist besonders interessant bezüglich der Infiltration glatter Muskelzellen. Seine Expression könnte die Verbindung zwischen einer Infektion mit HCMV und der Entstehung einer Arteriosklerose erklären (Streblov et al., 2001). Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass Genprodukte der sehr frühen Infektionsphase von HCMV zu einer Erhöhung der Expression von Wachstumsfaktoren und deren Rezeptoren (z.B. PDGF- β) führen. Dabei kommt es zu einer erhöhten Proliferation und Einwanderung von glatten Muskelzellen sowie einer Inhibition der Apoptose (Zhou et al., 1999; Speir et al., 1994; Tanaka et al., 1999; Zhu et al., 1995). Letztendlich wurde ein weiterer Effekt von HCMV bezüglich der Entstehung einer Arteriosklerose aufgedeckt, nämlich seine Fähigkeit, eine pro-koagulante Umgebung mittels eines Phospholipids auf der Oberfläche von Endothelzellen sowie die Thrombosierung zu induzieren (van Dam-Mieras et al., 1992; Pryzdial und Wright, 1994).

Das kardiovaskuläre Risiko wurde assoziiert mit der seropositiven Antwort unter anderem für *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, HCMV und weitere Herpesviren (Übersicht in Morré et al., 2000). Dennoch konnte in einigen größeren Patientenstudien keine ausreichende Verbindung festgestellt werden (Danesh, 1999; Danesh et al., 2000). Eine positive Immunantwort auf HCMV stellt keinen prognostischen Marker für ein primäres Risiko einer Koronarerkrankung dar, wie dies in großen Patientenstudien gezeigt werden konnte (Anderson et al., 1998; Nieto, 1999), wohl aber für sekundäre Risiken wie Exitus oder Myokardinfarkt in Patienten mit einer vorhandenen Koronarerkrankung – vor allem in Patienten mit einem erhöhten Entzündungsparameter, z.B. hoher CRP- oder IL-6-Spiegel (Muhlestein et al., 2000; Blankenberg et al., 2001; Smieja et al., 2003). Aufgrund der mäßigen und variablen Risikobewertung für die einzelnen pathogenen Erreger haben Zhu et al. (2000) die Summe (Multiplizität) der relevanten infektiösen Erreger als einen neuen wichtigen Risikofaktor definiert, den sog. *total pathogen burden*. Es konnte gezeigt werden, dass ein serologischer Nachweis von mehr als fünf relevanten Erregern mit einem

höheren Risiko für Exitus und Myokardinfarkt verbunden war als einer mit weniger als fünf Erregern (Rupprecht et al., 2001; Zhu et al., 2001).

Arteriosklerose beinhaltet zudem eine systemische inflammatorische Komponente, was daran gezeigt werden konnte, dass die Inzidenz, der Schweregrad und die Folgen der Arteriosklerose stark mit systemischen Entzündungsmarkern korrelieren (Liuzzo et al., 1994; Ross, 1999). Darüber hinaus kann diese chronische entzündliche Antwort an den infektiösen Vorgang gekoppelt sein, was eine pro-atheromatöse Umgebung induziert. Infiltration entzündlicher Zellen wurde in atheromatösen Plaques in allen Krankheitsstadien beobachtet, und viele Studien stellen einen Zusammenhang zwischen Entzündungsmarkern im Blutserum, wie dem CRP-Spiegel, und den zukünftigen Ereignissen im Herzen her, sowohl bei gesunden Individuen als auch bei Patienten mit einer stabilen oder instabilen Angina pectoris. Zhu et al. (1999) konnten zeigen, dass der Zusammenhang zwischen einer Infektion mit HCMV und der Ausbildung einer Arteriosklerose davon abhängt, ob eine entzündliche Antwort aktiviert wird oder nicht. Der serologische Nachweis von HCMV allein war kein unabhängiger Marker für KHK; erst im Zusammenhang mit einem erhöhten CRP-Spiegel konnten bessere Vorhersagen getroffen werden.

Die Entstehung einer Arteriosklerose wurde auch im Zusammenhang mit autoimmunologischen Prozessen diskutiert. Verschiedene Autoantigene und deren Autoantikörper sind mit der Arteriosklerose assoziiert worden (Shoenfeld et al., 2000), so z.B. HSP-60/Anti-HSP-60, welches die Proliferation von T-Zellen innerhalb der Plaques induziert (Wick et al., 1995), oder oxLDL/Anti-oxLDL, welches eine Rolle in der Schaumzellbildung spielt (Shoenfeld et al., 2001).

1.4 Diagnostik und Therapie der entzündlichen Herzerkrankungen

Die Diagnose ist im Falle der Myokarditis/DKMP ausgesprochen schwierig und vom subjektiven Urteil des Klinikers und insbesondere des Pathologen abhängig. Eine erste Vereinheitlichung brachte das „Dallas-Panel“ von 1984, in dem lichtmikroskopische Kriterien zur Beurteilung von Biopsien festgelegt wurden (Aretz et al., 1986). Dennoch werden meist bei DKMP-Patienten chronisch-entzündliche Prozesse

nicht erkannt, da es unter anderem schwierig ist, nicht-entzündliche Zellen (z.B. Fibroblasten) von infiltrierten Immuneffektorzellen im Hämatoxilin-Eosin-(HE-)Präparat zu unterscheiden (Kühl et al., 2002). Häufig ist auch die Ursache der chronischen Herzmuskelentzündung nicht erkennbar, da vor allem die krankheitsauslösenden Viren schwer nachzuweisen sind, unter anderem, da sie im Herzmuskelgewebe latent vorkommen können. Daher versagen auch meist die Serologie und herkömmliche zellbiologische Untersuchungen von Gewebeproben wie z.B. die Virusisolierung als Virus-Nachweismethode (Morgan-Capner et al., 1984; Griffin et al., 1995). Auch würde ein positiver serologischer Befund keine Information darüber geben können, ob eine Virusinfektion im Myokardgewebe vorliegt oder nicht. Eine fortbestehende Replikation von Virusnukleinsäuren, mit oder ohne Virusproteinsynthese, kann beispielsweise im Falle der EV über (Auto-)Immunreaktionen zu Störungen des Zellmetabolismus und schließlich zum Zelluntergang führen [siehe Kap. 1.3.1]. Fortschritte liegen in der methodischen Entwicklung der Immunhistologie zum Nachweis von Immunkomplexbindungen (Kühl et al., 2002) bezüglich der Expression von Adhäsions-Molekülen (z.B. HLA I/II, CD54, CD59, VCAM-1) und Charakterisierung des zellulären Infiltrates (Lymphozyten, z.B. positiv für CD2, CD3, CD4, CD8). Mittels PCR und ISH [siehe Kap. 2.2.4 und 2.2.8] können virale Nukleinsäuresequenzen in den Myozyten, im Interstitium und im Gefäßendothel nachgewiesen werden und bei fehlender Entzündungsreaktion eine potenzielle Viruspersistenz ausgemacht werden (Bowles und Vallejo, 2003).

Erst die Entwicklung der immunhistologischen und molekularbiologischen Methoden führte zu wesentlich klareren Vorstellungen über die Pathogenese und Einteilung der entzündlichen Kardiomyopathie, über die Expertenkomitees in Marburg 1999 Konsens erzielten (Maisch et al., 2000). Eine Klassifizierung der Myokarditis/DKMP in aktive Myokarditis, „Borderline“-Myokarditis, inflammatorische DKMP mit/ohne virale Persistenz, nicht-inflammatorische DKMP mit/ohne virale Persistenz kann nicht nur zu einem besseren Verständnis der zugrunde liegenden pathologischen Mechanismen, sondern auch zur Entwicklung spezifischer antiviraler bzw. immunsuppressiver oder –modulatorischer Therapien beitragen (Kühl et al., 2002).

Zahlreich, umfangreich, aber widersprüchlich sind die Studien, in denen der Einfluss einer immunsuppressiven Therapie mit anti-inflammatorischen Mitteln wie Methyl-

prednisolon, Cyclosporin A, intravenösem Immunglobulin (IVIG) auf die chronische Myokarditis/DKMP untersucht wurde (Parrillo et al., 1989; Kühl et al., 1994; Mason et al., 1995; McNamara et al., 1997; Dorfell et al., 2000; Gullestad et al., 2001; McNamara et al., 2001; Staudt et al., 2001; Wojnicz et al., 2001). Diese Studien waren meist weder randomisiert noch kontrolliert und konnten daher nicht mit dem sehr variablen Spontanverlauf verglichen werden. Die Auswahl der Patienten erfolgte meist eher nach histologischen als nach immunhistologischen und molekularbiologischen Diagnostikkriterien, was dazu führte, dass aufgrund einer zuvor nicht festgestellten akuten Myokarditis eine hohe Spontanheilungsrate – sowohl in konventionell als auch in immunsuppressiv behandelten Patienten – zu verzeichnen war (Cunnion und Parrillo, 1995; Hahn et al., 1995; Maisch et al., 1995). Umgekehrt wurde infolge einer falschen Diagnose anstelle einer akuten Myokarditis vielmehr eine DKMP behandelt, die offensichtlich aufgrund der konventionellen Therapie zu einer Besserung führte, weshalb die immunsuppressiv behandelte Patientengruppe sich nicht sonderlich von der Placebo-Gruppe unterschied (McNamara et al., 2001). Auch konnte gezeigt werden, dass Patienten, die nicht auf eine immunsuppressive Therapie reagiert haben und in einer retrospektiven PCR-Analyse positiv für EV-spezifische Nukleinsäuresequenzen waren, während der immunsuppressiven Behandlung Virus-induzierte Schädigungen in den Kardiomyozyten aufwiesen. Es ist daher möglich, dass bei einer chronischen Myokarditis oder DKMP mit Viruspersistenz durch die immunsuppressive Behandlung die Virusreplikation wieder initiiert wird. Um derartige „Therapiepannen“ in Zukunft auszuschließen, ist eine zuverlässige Diagnostik, basierend auf histologischen/immunhistologischen sowie molekularbiologischen Methoden, zur besseren Klassifizierung der Erkrankung unbedingt notwendig (Kühl et al., 2002).

Eine antivirale Therapie der viralen Herzerkrankung gibt es derzeit nicht. Erste klinische Studien erproben zur Zeit die Anwendung der Interferon (IFN)-Therapie. Man unterscheidet drei Typen von Interferonen: IFN- α und $-\beta$ sind antiviral wirkende Zytokine. Sie hemmen sowohl die Vermehrung von Viren als auch die Zellteilung und haben dadurch auch tumorhemmende Eigenschaften. IFN- γ wirkt überwiegend immunregulatorisch. Es induziert die Freisetzung weiterer Zytokine und steigert die Effektorfunktion der zytotoxischen T-Zellen, der natürlichen Killerzellen und der mononukleären Phagozyten. Es gilt als eines der zentralen Zytokine bei der Im-

munantwort auf Virusinfektionen (Modrow et al., 2003). Interferone werden in virusinfizierten Zellen synthetisiert (IFN- α in Leukozyten, - β in Fibroblasten und - γ in Lymphozyten) und von dort in die Umgebung abgegeben. Anhand experimenteller und klinischer Studien konnte bisher gezeigt werden, dass a) zwischen einer Virusinfektion und der Interferonsynthese ein deutlicher (natürlicher) Zusammenhang besteht, der i.d.R. zu einer Ausheilung führt; b) eine Synthese- bzw. Funktionshemmung von Interferonen zu einer wesentlich schwerer verlaufenden Infektion führt und c) die Behandlung mit IFN gegen Virusinfektionen schützt (Kühl et al., 2002).

Der antivirale Effekt ist unabhängig vom Virustyp und resultiert in einer intrazellulären Blockade der Virusreplikation. Interferone erhöhen die Resistenz gegenüber der Virusreplikation. Da effektiv wirksame IFN- β -Konzentrationen *in vivo* hergestellt werden können, könnte IFN- β unter anderem in der Behandlung von Patienten mit einer viralen Kardiomyopathie nützlich sein. Dies konnte bereits in einer Phase II-Studie belegt werden, wobei Patienten mit einer nachgewiesenen Viruspersistenz und einer linksventrikulären Dysfunktion nach einer antiviralen Therapie mit IFN- β klinische Besserungen zeigten. Nach sechs Monaten konnten in Biopsieproben der behandelten Patienten weder EV- noch ADV-spezifische Genomsequenzen mehr nachgewiesen werden, was auf eine völlige Viruseliminierung hinweist. Die Viruseliminierung wurde von einer Reduktion der klinischen Beschwerden wie Angina pectoris, Dyspnoe, Herzklopfen und Ermüdung und damit eine bessere NYHA-Klassifizierung zur Beurteilung des Schweregrades der Herzinsuffizienz begleitet (Kühl et al., 2002).

Es gibt noch weitere antivirale Therapieansätze, vor allem aus anderen Bereichen, die hier nur kurz erwähnt werden. So z.B. konnte aus Meningitis-Studien eine mögliche Anwendung von Pleconaril gegen Picornavirus-Infektionen abgeleitet werden (Bauer et al., 2002; Rotbart et al., 2001). Diese Substanz bindet an das Viruskapsid und verhindert zum einen die Rezeptorbindung und zum anderen den Austritt der viralen RNA. Es soll gut verträglich sein und zu einer schnellen Symptomlinderung führen. Ein Problem könnte allerdings das Auftreten von resistenten Virusstämmen darstellen. Für die Therapie von HCMV-Infektionen werden (z.B. in der Transplantationsmedizin) Ganciclovir und Foscarnet als die Mittel der Wahl zur Behandlung bzw. Prophylaxe angewendet (Pereyra und Rubin, 2004). Beide Sub-

stanzen verursachen aber diverse Nebenwirkungen. Cidofovir, ein Cytidin-Analogon, wurde bei Knochenmarktransplantatempfängern erfolgreich gegen ADV-Infektionen angewendet (Ljungman et al., 2003). Das Chemotherapeutikum wirkt aber nieren-schädigend. Influenzavirusinfektionen könnten mit Neuraminidase-Hemmern (Zanamivir, Oseltamivir) behandelt werden, welche in das „Budding“ der Viren eingreifen (Nichols et al., 2004). Für PVB19 wird zur Zeit die Anwendung von IVIG zur Behandlung diskutiert, wobei hier als Wirkungsmechanismus eine schnellere Immunadsorption von schädigenden Auto-Antikörpern zu einer guten Prognose führen könnte (Stouffer et al., 2003). Allerdings gibt es mittlerweile auch Bedenken bezüglich der Virussicherheit von IVIG, da es aus Blutprodukten gewonnen wird, die mit PVB19 kontaminiert sein könnten (Hayakawa et al., 2002).

Derzeit laufen außerdem zwei Studien, die die bisher gemachten Einwände bezüglich der Patientenauswahl und Diagnostikkriterien berücksichtigen: die „European Study of Epidemiology and Treatment of Cardiac Inflammatory Diseases (ESETCID)“ und die Studie „Treatment of Chronic Myocarditis in Children“ (Hufnagel et al., 2000; Schmaltz et al., 1998). Die erst genannte Studie unterscheidet erstmals genau die Ätiologie der Entzündungen daraufhin, ob es sich um HCMV, EV, ADV oder eine autoreaktive Myokarditis handelt. Dementsprechend ist auch die Therapie unterschiedlich. Da diese Studie noch nicht entblindet ist, wurden die Ergebnisse noch nicht vollständig publiziert. In der zweiten Studie werden die Patienten abhängig vom Biopsieergebnis ebenfalls unterschiedlich behandelt. Die geringe Zahl der bisher randomisierten Patienten erlaubt jedoch noch keine statistische Aussage über den Wert der Therapiemodi.

Es kann daher festgehalten werden, dass es zur Zeit in der klinischen Praxis für entzündliche Herzerkrankungen keine kausale Therapie hinsichtlich der viralen Erreger und kein Anhalt für den Nutzen immunsuppressiver Therapien gibt – bei akuten Verläufen wirken sie eher schädlich, bei chronischen Verläufen sind sie noch umstritten. Daher kommen i.d.R. die konventionellen Therapiemaßnahmen zur Behandlung der festgestellten Herzinsuffizienz zum Tragen, wie z.B. Vermeiden von körperlichen Spitzenbelastungen, Bettruhe, das sog. Herzbett (bei akuten Fällen), Thromboseprophylaxe, ACE-Hemmer, Diuretika, Digitalis, β -Blocker usw. (Schettler und Greten, 1998). Bei therapieresistenter Herzinsuffizienz und Herzfehlern mit hö-

heren Schweregraden (NYHA III und IV) stellen die Herztransplantation oder Herzklappenverpflanzung – bei durch Herzklappendysfunktion verursachter Herzinsuffizienz – die einzigen lebensrettenden Therapiemaßnahmen dar. Mit fast 60 % der Anmeldungen ist die DKMP in Deutschland die häufigste Indikation für Herztransplantationen, gefolgt von der KHK mit 27 % (DSO, 2002). Als wesentliche Komplikationen können bei der Transplantation die Abstoßungsreaktion (Rejektion) – vor allem als Frühkomplikation – und die Transplantat-Arteriosklerose in der Langzeitprognose auftreten. Beides kann unter anderem auch viral induziert sein (McNamara et al., 1996; Schowengerdt et al., 1996; Gallo et al., 1997; Schowengerdt et al., 1997; Heegaard et al., 1998; Bernabeu-Wittel et al., 1999; Koskinen et al., 1999; Lower et al., 2001; Weill, 2001; Gao et al., 2003). Die Prävalenz der einzelnen in Frage kommenden kardiotropen viralen Erreger in möglichen Komplikationen nach einer Herztransplantation bzw. nach einem Herzklappenersatz ist derzeit kaum erfasst. Insbesondere wurde bisher fälschlicherweise angenommen, dass Herzklappen bedingt durch ihre kollagene Gewebeschaffenheit als Ort für eine Virusinfektion bzw. -replikation nicht in Frage kommen.

Shirali et al. (2001) konnten an herztransplantierten Kindern zeigen, dass der Nachweis von viralen Genomstrukturen, insbesondere ADV-spezifischen, im transplantierten Herzen mit einem 6,5-fach erhöhten Risiko für koronare Vaskulopathie und Transplantatverlust einhergeht. Es wird angenommen, dass neben HCMV auch andere virale Erreger die Abstoßungsreaktion durch immunpathogenetische Prozesse triggern können. *In puncto* Virussicherheit und Spenderauswahl werden aber zur Zeit, wie auch bei anderen Organ- und Gewebetypen, lediglich Untersuchungen bezüglich HCMV, HIV, Hepatitis B- und -C-Virus durchgeführt (Balk et al., 1998; Bundesärztekammer, 2001; COE, 2002).



Abbildung 5:
Homograft nach der
Präparation.

Da bezüglich der Prävalenz von kardiotropen viralen Erregern (z.B. EV, ADV, HCMV, PVB19) im Zusammenhang mit möglichen Komplikationen, die nach einer Transplantation auftreten können, keine gesicherten Daten vor-

liegen und entsprechende Richtlinien zur Qualitätssicherung von Herztransplantaten und Herzklappen zu Transplantationszwecken (sog. Homografts, Abb. 5) diesen Aspekt nicht genügend berücksichtigen, sollte im Rahmen der vorliegenden Studie vorab die Frage geklärt werden, ob innerhalb des untersuchten Spenderpools virusbelastete Herzen vorkommen. Hierbei sind insbesondere die Homografts von Interesse, da neben abgelehnten Spenderherzen auch sog. Dominoherzen für die Entnahme und Präparation von Herzklappen herangezogen werden. Bei Dominoherzen handelt es sich um explantierte Herzen von Patienten, die aufgrund einer kardialen Erkrankung (i.d.R. DKMP) transplantiert wurden und die schriftlich eingewilligt haben, dass ihr Herz für die Gewinnung von Homografts benutzt werden darf. Mit Hilfe der ermittelten Daten sollte dann die Relevanz hinsichtlich möglicher Konsequenzen für Transplantationen erläutert werden, um den Bedarf für weiterführende Studien, zur Bestätigung des potenziellen Risikos für Empfänger von virusbelasteten Transplantaten und für die Verbesserung der bisherigen Qualitätssicherung für die Spenderauswahl in Zukunft zu verdeutlichen.

1.5 Ein neuartiger Vertreter der Picornaviren – das Ljunganvirus

Sechs plötzliche Todesfälle durch akute Myokarditis innerhalb einer Gruppe von 200 sog. Elite-Orientierungsläufern aus Schweden, die sich in einem Zeitraum von drei Jahren, 1989 bis 1992, ereigneten (Wesslén et al., 1992), führten zu der Annahme,

dass es sich hierbei um eine vektorabhängige Infektion in den Wäldern Schwedens handeln müsste (Niklasson et al., 1998). Die Suche nach einem infektiösen Erreger, der potenziell humanpathogen ist und Myokarditis verursacht, führte zur Entdeckung eines neuartigen Virus, welches Ljunganvirus (LV) genannt wurde. Das Virus wurde erstmalig aus schwedischen Rötelmäusen der Art *Clethrionomys glareolus* [Waldwühlmaus] (Abb. 6) isoliert, welche in der Nähe des Flusses Ljungan in Süd-Schweden (Västernorland) gefangen wurden (Niklasson et al., 1998; Niklasson et al., 1999).



Quelle: Apodemus AB

Abbildung 6:

Die Rötelmaus *C. glareolus*.

Vektor des kürzlich beschriebenen Ljunganvirus (*Picornaviridae*).

Vergleichende Sequenzanalysen des LV-Prototyps 87-012 mit zwei weiteren serologisch nah verwandten LV-Isolaten, 174F und 145SL, haben gezeigt, dass die Genome der

neu bestimmten schwedischen LV-Stämme eng verwandt sind und eine Picornavirus-ähnliche Struktur besitzen – 5'-nicht-translatierte Region-VP0-VP3-VP1-2A1-2A2-2B-2C-3A-3B-3C-3D-3'-nicht-translatierte Region – mit einigen verschiedenen molekularen Besonderheiten (Johansson et al., 2002): Unter anderem kommt es bei LV nicht zu der Strukturprotein-Prozessierung von VP0 zu VP4 und VP2 durch die enzymatische Aktivität im VP2-Anteil des VP0, wie dies von anderen Picornaviren bekannt ist (Modrow et al., 2003). Des Weiteren weist das Virus in der 2A-Region (Proteinase) ein Cluster von zwei unterschiedlichen 2A-Homologen auf sowie eine einzigartige C-terminale Erweiterung im VP1-Kapsidprotein. Phylogenetische Analysen haben gezeigt, dass die LV-Isolate eine monophyletisch eigenständige Gruppe darstellen, die sich zusammen mit dem Genus der Parechoviren von anderen Mitgliedern der *Picornaviridae* unterscheiden (Johansson et al., 2002; Lindberg und Johansson, 2002). Darüber hinaus konnte eine komplette Genomsequenz eines weiteren Virusisolats M-1146 als Mitglied der *Picornaviridae* verifiziert werden. Dieses Virus wurde bereits 1962 aus einer anderen Mäusespezies namens *Microtus mon-*

tanus [Bergwühlmaus], die in Oregon (USA) gefangen wurde, isoliert; es ist den schwedischen LV-Isolaten sehr nah verwandt, stellt aber innerhalb des LV-Clusters einen neuen Genotyp dar (Johansson et al., 2003). Der Nachweis von LV sowohl in schwedischen als auch in nordamerikanischen Mäusepopulationen lässt die Vermutung zu, dass LV geographisch innerhalb der zahlreich vorkommenden Mäusepopulationen weit verbreitet sind. Die Rötelmaus *C. glareolus* kommt neben anderen Nagetierspezies (z.B. *M. arvalis*, *Apodemus spp.*, *Rattus norvegicus* usw.), die bereits als potenzielle Wirte für Hantaviren (insbesondere Dobrava- und Puumalavirus) beschrieben worden sind (Ulrich et al., 2004), auch in Deutschland vor. Zur Zeit sind sieben LV-Stämme bekannt: aus Schweden LV 87-012, LV 174F, LV 145SL, LV 342SL und aus den USA M-1146, NY64-7855, NY64-7947, welche im Rahmen der vorliegenden Studie unter anderem zur Etablierung einer quantitativen PCR verwendet wurden.

Im Augenblick existieren nur wenige Daten, die eine mögliche Rolle von LV bei der Entstehung humaner Erkrankungen belegen, so z.B. schwach positive Befunde in Seren von vier schwedischen Myokarditis-Patienten (Niklasson et al., 1999) oder der Nachweis von Picornavirus-ähnlichen Partikeln im Pankreasgewebe Diabetes-erkrankter Rötelmäuse (Niklasson et al., 2003). Zum größten Teil basiert die Hypothese einer humanpathogenen Rolle von LV auf der Beobachtung, dass die Inzidenz von Erkrankungen wie Myokarditis, Diabetes mellitus, Guillain-Barré-Syndrom (Niklasson et al., 1998) oder Präeklampsie (persönliche Mitteilung Dr. Dr. B. Niklasson) mit dem drei- bis vierjährigen Populationszyklus der schwedischen Rötelmaus korreliert. Weitere Untersuchungen am Tiermodell und anhand klinischer Proben sind in Zukunft notwendig, um die Richtigkeit der Hypothese zu bestätigen. In diesem Zusammenhang sei zur Vollständigkeit erwähnt, dass auch für Hantaviren ein Verdacht hinsichtlich einer Beteiligung an entzündlichen Herzmuskelerkrankungen anhand von Einzelfallstudien (Tennstedt et al., 1994) und Resultaten aus Tiermodellen (Botten et al., 2000; Botten et al., 2003) besteht.

Im Rahmen der vorliegenden Studie sollte mit Hilfe einer neu entwickelten PCR anhand der entnommenen Proben aus Herztransplantatempfängern und Herzspendern untersucht werden, ob es Anzeichen für die Präsenz von LV in Deutschland gibt. Gleichzeitig sollte auch auf das Vorhandensein von Hantaviren untersucht werden,

da diese ebenfalls durch Nagetierspezies übertragen werden und im Verdacht stehen, an entzündlichen Herzerkrankungen beteiligt zu sein. Darüber hinaus sollten erste grundlegende Arbeiten zur näheren Charakterisierung des LV durchgeführt werden, die für weitere Studien zur Klärung der humanpathogenen Relevanz von LV notwendig sind. So sind bisher keine geeigneten Studien zu Infektionsverläufen dieses Virus, weder *in vitro* noch *in vivo*, bekannt. Bisherige Infektionsstudien in verschiedenen Zellkulturen scheiterten aufgrund einer schwachen Virusproduktion und schwacher Ausbildung eines erkennbaren zytopathischen Effektes (Johansson et al., 2004).

1.6 Fragestellung der Dissertation

Im Rahmen einer Kooperation zwischen dem RKI und dem DHZB sollten an Herzgewebe von Herztransplantatempfängern und Herzspendern Untersuchungen hinsichtlich des Vorkommens von Genomen verschiedener RNA- und DNA-Viren durchgeführt werden, um die Prävalenz einzelner potenziell kardiotoxischer Erreger genauer zu bestimmen. Eingeschlossen wurden a) Viren, für die ein ätiologischer Zusammenhang mit entzündlichen Herzerkrankungen belegt ist (EV, ADV, HCMV, PVB19, Influenzaviren), als auch b) Viren mit bisher unbekanntem Risiko (Ljunganviren, Hantaviren). Die retrospektiven Untersuchungen sollten Auskunft darüber geben, ob und welche viralen Nukleinsäuresequenzen sich in erkrankten bzw. gesunden Herzen nachweisen lassen. Die molekularbiologischen Befunde sollten (wenn möglich) mit serologischen und histopathologischen Befunden verglichen werden. Speziell galt es folgende Fragen zu beantworten:

1.6.1 Prävalenz kardiotoxischer viraler Erreger bei entzündlichen Herzerkrankungen

Die Auswertung von Literaturdaten belegt zwar einen Zusammenhang zwischen viralen Erregern im Herzen und entzündlichen Erkrankungen wie Myokarditis, DKMP und KHK, dennoch existieren bezüglich der Prävalenz einzelner in Frage kommender kardiotoxischer viraler Erreger nur wenige Daten, um eine potenzielle direkte Rolle dieser Erreger in der Pathogenese der jeweiligen Erkrankungen zu verifizieren. Mit Hilfe der PCR-Methodik sollte bestimmt werden, wie häufig sich kardiotoxische Erreger

(hier: EV, ADV, HCMV, PVB19, Influenzaviren) in Herztransplantatempfängern mit einer bestimmten Herzerkrankung bzw. in primär gesunden Herzspendern nachweisen lassen.

1.6.2 Risiken für Empfänger von Herztransplantaten und Homografts

Ein weiterer Aspekt dieser Studie stellt die Virussicherheit von Herztransplantaten und menschlichen Herzklappen zu Transplantationszwecken (sog. Homografts) dar, da bezüglich der Prävalenz von kardiotropen viralen Erregern im Zusammenhang mit Komplikationen, die nach einer Transplantation auftreten können, keine gesicherten Daten vorliegen und entsprechende Richtlinien zur Qualitätssicherung von Herztransplantaten und Herzklappengewebe diesen Aspekt nicht genügend berücksichtigen. Das potenzielle gesundheitliche Risiko für die Empfänger von Transplantaten sollte anhand der Ergebnisse dieser Studie geklärt werden.

1.6.3 Prävalenz von Ljunganvirus- und Hantavirus-RNA in Herzgewebe von Herztransplantatempfängern und Herzspendern

Auf der Grundlage neuer Erkenntnisse über eine bisher unbekannt Gattung der *Picornaviridae*, das Ljunganvirus, die zunächst nur in Schweden und den USA nachgewiesen worden ist und die im Verdacht steht, unter anderem Myokarditis beim Menschen zu verursachen, sollte mit Hilfe einer neu entwickelten PCR in Myokardproben von Herztransplantatempfängern und Herzspendern untersucht werden, ob es Anzeichen für die Präsenz von LV in Deutschland gibt. Die Frage stellt sich, da der mögliche Vektor, die Rötelmaus *C. glareolus*, auch in Deutschland verbreitet ist. Gleichzeitig sollte auch auf die Präsenz von Hantaviren untersucht werden, da diese ebenfalls durch Nagetierspezies übertragen werden und im Verdacht stehen, an entzündlichen Herzerkrankungen beteiligt zu sein. Außerdem sollten bestimmte Eigenschaften des LV wie der Infektionsverlauf in Zellkultur, die Lokalisation von Oberflächenproteinen und die Morphologie mittels geeigneter Methoden näher charakterisiert werden.