

Aus dem Institut für Pathologie der Universität Tübingen
Abteilung: Allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie
Leiter: Professor Dr. F. Fend

**Morphologische und molekularpathologische
Befunde bei kindlichen Kardiomyopathien
unter besonderer Berücksichtigung
der Myokarditis**

INAUGURAL – DISSERTATION
Zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Christina-Oana Rab
aus
Reschitz / Rumänien

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. B. Bültmann

2. Berichterstatter: Professor Dr. R. Haasis

Danksagung

Ich danke Herrn Professor Dr. B. Bültmann für die Bereitstellung des Themas und die Unterstützung vor allem in der Endphase dieser Arbeit.

Ebenso gilt mein Dank dem Institut für molekulare Pathologie, insbesondere Professor Dr. R. Kandolf, für die Überlassung molekularbiologischer Befunde.

Ein herzliches Dankeschön an das Sekretariat von Professor Dr. B. Bültmann für die geduldige Unterstützung.

Ein ganz besonderes Dankeschön auch an Professor Dr. M. Wehrmann für die tatkräftige Unterstützung.

Ein Dankeschön an Herrn R. Lambrecht für die ausgezeichnete Unterstützung in EDV-Angelegenheiten und der Bereitstellung von histologischen Abbildungen.

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	4
1.1	Einteilung der Kardiomyopathien	4
1.2	Kardiomyopathien im Kindesalter	8
1.3	Fragestellung	9
2	MATERIAL UND METHODEN	10
2.1	Bioptisches Material.....	10
2.1.1	Auswahl der Biopsien	10
2.1.2	Klinische Daten	10
2.2	Histologie und Immunhistologie.....	11
2.2.1	Konventionelle Standardfärbungen	12
2.2.1.1	Hämalaun-Eosin-Färbung	12
2.2.1.2	Masson-Trichrom-Färbung.....	12
2.2.2	Immunhistochemische Färbungen.....	12
2.2.2.1	T-Lymphozyten.....	13
2.2.2.2	Makrophagen	13
2.2.2.3	Glatte Muskelzellen, Myofibroblasten, myoepitheliale Zellen	13
2.3	Molekularpathologische Techniken.....	14
2.3.1	Polymerase Kettenreaktion (PCR).....	14
2.3.2	In situ Hybridisierung (ISH).....	15
2.4	Datenerfassung und klinischer Erfassungsbogen	16
2.4.1	Klinischer Erfassungsbogen	16
2.5	Histologische, immunhistochemische und molekular-pathologische Befundung der Endomyokardbiopsien.....	20
2.5.1	Einteilung der Kardiomyopathien nach der WHO/ISFC Klassifikation von 1996.....	20
2.5.2	Histologische und immunhistologische Klassifikation der Myokarditiden nach Dallas und ISFC	20
2.6	Statistische Auswertung.....	21

3	ERGEBNISSE: ALLGEMEINER TEIL.....	22
3.1	Charakterisierung des Patientengutes.....	22
3.2	Gruppeneinteilung.....	22
3.3	Altersverteilung	23
3.4	Geschlechterverteilung.....	23
4	ERGEBNISSE: SPEZIELLER TEIL.....	25
4.1	Ergebnisse der histologischen und immun-histologischen Untersuchungen	25
4.1.1	Histologische und immunhistologische Diagnosen bei den Erstbiopsien.....	25
4.1.1.1	Morphologische Diagnosen (Dallas-Kriterien und WHO/ISFC-Klassifikation) bei der Erstbiopsie.....	26
4.1.2	Histologische und immunhistologische Diagnosen bei den konsekutiven Biopsien..	33
4.1.2.1	Morphologische Diagnosen (Dallas-Kriterien und WHO/ISFC-Klassifikation) bei den konsekutiven Biopsien:.....	33
4.2	Molekularpathologische Untersuchungen.....	35
4.2.1	Polymerase Kettenreaktion (PCR).....	35
4.2.1.1	Zuordnung der Ergebnisse der PCR-Untersuchung zu den histologischen Befunden bei Erstbiopsien.....	37
4.2.1.2	Zuordnung der Ergebnisse der PCR-Untersuchungen zu den histologischen Befunden bei konsekutiven Biopsien.....	39
4.2.2	In situ Hybridisierung (ISH).....	40
4.3	Klinische Daten.....	42
4.3.1	Übereinstimmung der morphologischen Hauptdiagnosen mit den klinischen Verdachtsdiagnosen	42
4.3.1.1	Morphologische Hauptdiagnosen und klinische Verdachtsdiagnosen bei den Erstbiopsien	42
4.3.1.2	Morphologische Hauptdiagnosen und klinische Verdachtsdiagnosen bei den konsekutiven Biopsien	45
4.3.2	Klinischer Verlauf und Therapie.....	45
5	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE	52

6	DISKUSSION.....	58
7	ZUSAMMENFASSUNG.....	78
8	LITERATURVERZEICHNIS.....	82

1 Einleitung

1.1 Einteilung der Kardiomyopathien

Kardiomyopathien stellen eine wichtige und heterogene Gruppe von Erkrankungen dar. Die bislang zahlreich publizierten Klassifikationsschemata (2, 75, 110, 135, 136, 158, 159, 168) sind potentiell hilfreich bei dem Versuch, Ähnlichkeiten und Unterschiede der komplexen Formen dieser Erkrankung herauszuarbeiten und um ein höheres Maß an Verständnis zu erzeugen (107).

Die Idee einer ausschließlich auf den Herzmuskel beschränkten Erkrankung hat eine bemerkenswerte und lange Geschichte. 1850 war die chronische Myokarditis die einzige bekannte Ursache für Herzmuskelerkrankungen. 1900 wurde erstmalig der Begriff der primären myokardialen Erkrankung definiert und erst 1957 wurde die Bezeichnung „Kardiomyopathie“ eingeführt. In den letzten 25 Jahren wurde eine Reihe von Definitionen für die Kardiomyopathien veröffentlicht in Verbindung mit einem wachsenden Bewusstsein und dem erweiterten Verständnis für diese Erkrankungen. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) beschrieb 1968 die Kardiomyopathien als „Erkrankungen von unterschiedlicher und oft unbekannter Ätiologie, die mit Kardiomegalie und Herzversagen einhergehen“. In der WHO-Klassifikation von 1980 wiederum wurden Kardiomyopathien lediglich als „Herzmuskelerkrankungen unbekannter Ursache“ definiert. Dies spiegelt das Informationsdefizit wider bezüglich Entstehung und zugrunde liegenden Prozessen dieser Erkrankungen. Die bis heute gültige WHO-Definition von 1995/1996 bezeichnet Kardiomyopathien als Erkrankungen des Herzmuskels, die mit einer kardialen Funktionsstörung einhergehen (99, 135).

Insgesamt werden hier sechs Kardiomyopathieformen unterschieden (Tabelle I):

Bezeichnung	Abkürzung	Charakteristikum
1. Dilatative Kardiomyopathie	DCM	Systolischer Pumpfehler
2. Hypertrophische Kardiomyopathie mit und ohne Obstruktion	HCM / IHSS*	Diastolischer Compliancefehler (=Störung der Dehnbarkeit des Herzmuskels) *IHSS = infundibuläre hypertrophische Subaortenstenose (Benennung im Kindesalter)
3. Restriktive Kardiomyopathie	RCM	Endomyokardfibrose mit und ohne Eosinophilie, diastolischer Compliance-Fehler
4. Arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie/ Dysplasie	ARVC/D	Überwiegend rechtsventrikulärer kombinierter Pumpfehler mit ventrikulären Tachykardien
5. Nichtklassifizierbare Kardiomyopathien	NKCM	z.B. Fibroelastose, minimal dilatierte Kardiomyopathie, mitochondriale Kardiomyopathie, Karzinoidherz, atriale und rhythmogene Formen
6. Spezifische Kardiomyopathien	SCM	z.B. ischämische, valvuläre, hypertensive, toxische, entzündliche, peripartale, metabolische, Kardiomyopathien als myokardiale Beteiligung bei Systemerkrankungen, bei muskulären und neurologischen Erkrankungen

Tabelle I: Klassifizierung der Kardiomyopathien WHO/ISFC von 1996 (99)

Aufgrund neuer Erkenntnisse auf dem Gebiet der Histopathologie, Molekularbiologie und Immunologie sowie mit der Entdeckung zahlreicher neuer Krankheitsaspekte, durch die verbesserte Diagnostik und erweiterter Kenntnisse bezüglich Ätiologie und Epidemiologie, wurde in den letzten Jahren die Notwendigkeit einer neuen und differenzierteren Definition der Kardiomyopathien deutlich.

Im Jahre 2006 wurde deshalb von der „American Heart Association“ (AHA) eine neue Definition und Klassifikation der Kardiomyopathien vorgeschlagen (107), auf die im Folgenden kurz eingegangen werden soll:

Definitionen und Vorschläge zur neuen Klassifikation (2006) (107) :

Nach der neuen Klassifikation von 2006, die allerdings bisher noch nicht allgemein akzeptiert worden ist, wird folgende Definition vorgeschlagen: *Kardiomyopathien sind eine heterogene Gruppe von Erkrankungen des Myokardgewebes in Verbindung mit mechanischer und/oder elektrischer Dysfunktion, die gewöhnlich (jedoch nicht ausschließlich) mit unmittelbarer ventrikulärer Hypertrophie oder Dilatation einhergehen und durch unterschiedliche Ursachen bedingt werden, die häufig genetisch sind. Kardiomyopathien sind auf das Herz beschränkt oder Teil von systemischen Störungen, die häufig zu kardiovaskulärem Untergang oder progressivem Herzversagen führen.*

Klassifikation der Kardiomyopathien nach neuen Kriterien (107):

Die Kardiomyopathien werden nach den neuen Kriterien in zwei große Gruppen unterteilt: *Primäre* Kardiomyopathien (hereditäre, gemischte (nicht-genetisch und genetisch, erworben) (s. Abb. 1) sind diejenigen, die allein oder vor allem den Herzmuskel beeinträchtigen. *Sekundäre* Kardiomyopathien zeigen Veränderungen des Herzmuskels als Teil einer Vielzahl unterschiedlicher generalisierter Multiorgan-Erkrankungen (s. Abb. 2). Diese Formen der Kardiomyopathie wurden in der alten WHO-Nomenklatur als „spezifische Kardiomyopathien“ bezeichnet.

Hinsichtlich der pathomorphologischen Einteilung der Kardiomyopathien ergeben sich keinerlei Veränderungen zu der 1996 publizierten WHO-Klassifikation.

Primary Cardiomyopathies		
Genetic	Mixed	Acquired
<ul style="list-style-type: none"> ▪ HCM ▪ ARVC/D ▪ LVNC ▪ Glycogen storage <ul style="list-style-type: none"> - PRKAG2 - Danon ▪ Conduction Defects ▪ Mitochondrial myopathies ▪ Ion Channel Disorders <ul style="list-style-type: none"> - LQTS - Brugada - SQTS - CVPT ▪ Asian SUNDS 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ DCM ▪ Restrictive (non hypertrophied and non-dilated) 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Inflammatory (myocarditis) ▪ Stress-provoked („tako-tsubo“) ▪ Peripartum ▪ Tachycardia-induced ▪ Infants of insulin-dependent diabetic mothers

Abbildung 1: Primäre Kardiomyopathien (nach B.J. Maron et al 2006 (107))

Secondary Cardiomyopathies

Infiltrative

- Amyloidosis
- Gaucher disease
- Hurler’s disease
- Hunter’s disease

Storage

- Hemochromatosis
- Fabry’s disease
- Glycogen storage disease
- Niemann-Pick disease

Toxicity

- Drugs, heavy metals, chemical agents

Endomyocardial

- Endomyocardial fibrosis
- Löffler’s endocarditis#

Inflammatory (granulomatous)

- Sarcoidosis

Endocrine

- Diabetes mellitus
- Hyperthyroidism
- Hypothyroidism
- Hyperparathyroidism
- Pheochromocytoma
- Acromegaly

Cadiofacial

- Noonan syndrome
- Lentiginosis

Neuromuscular/neurological

- Friedereich’s ataxia
- Duchenne-Becker muscular dystrophy
- Emery-Dreifuss muscular dystrophy
- Myotonic Dystrophy
- Neurofibromatosis
- Tuberous sclerosis

Nutritional deficiencies

- Beriberi (thiamine), pelagra scurvy, selenium, carnitine, kwashiorkor

Autoimmune/collagen

- Systemic lupus erythematosus
- Dermatomyositis
- Rheumatoid arthritis
- Scleroderma
- Polyarteritis nodosa

Electrolyte imbalance

Concequence of cancer therapy

- Anthracyclines: doxorubicin (adriamycin), daunorubicin
- Cyclophosphamide
- Radiation

Tabelle II: Sekundäre Kardiomyopathien (nach B.J. Maron et al 2006 (107))

1.2 Kardiomyopathien im Kindesalter

Die Kardiomyopathie ist eine der häufigsten kardialen Ursachen für die Sterblichkeit bei Kindern. Die Inzidenz der Kardiomyopathie im Kindesalter ist nicht bekannt aufgrund der fehlenden klinischen Erkennungsmerkmale und der mangelhaften Dokumentation. Für die Mehrheit der Fälle von Kardiomyopathie bei Kindern ist die Ursache ungeklärt und die Prognose schlecht (150). Neuere Studien zeigen, dass eine intensive palliative Therapie die schlechte Prognose nicht zu verbessern vermag (6,18,92,157). Kinder mit Kardiomyopathie zeigen eine Vielzahl von Symptomen wie Herzversagen, Arrhythmie, akute vegetative Krisen, Enzephalopathie, allgemeine Muskelschwäche, plötzlicher Herztod oder die Kardiomyopathie wird als Zufallsbefund im Rahmen von anderen Allgemeinerkrankungen diagnostiziert (5,150).

Das Spektrum der Kardiomyopathien im Kindesalter weist Unterschiede auf im Vergleich zu dem der Erwachsenen, z. B.: die endokardiale Fibroelastose wird fast ausschließlich bei Kindern diagnostiziert (63), die hypertrophische Kardiomyopathie hingegen erst bei Jugendlichen und Erwachsenen (106).

Von den unterschiedlichen ätiologischen Faktoren, die für die Entstehung der Kardiomyopathien verantwortlich sind, scheinen die genetischen Defekte eine weitaus größere Rolle für das Vorkommen von Kardiomyopathien im Kindesalter zu spielen (19,21,22,35,50,74,82,118,119,162,164), während umweltbedingte Faktoren eher für die Erkrankungen der Erwachsenen wichtig sind (53,55,72).

Als weitere Ursache für die Entstehung der Kardiomyopathien gilt die Myokarditis (1,9,14,23,25,45,95,116,155,167), die auch eine Dilatation und Hypokinesien des linken Ventrikels verursacht. Daher sollte eine Myokarditis bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie mittels Endomyokardbiopsie ausgeschlossen werden (16,64,91,102,103,140).

Die zeitliche Entwicklung und die Prognose-Faktoren der Kardiomyopathien im Kindesalter sind nicht klar beschrieben. Die 1-Jahres Sterblichkeitsrate von 29-37% und die 5-Jahres Sterblichkeitsrate von 66% sind höher als die bekannten Sterblichkeitsraten bei Erwachsenen (31,37,43,44,51,114,139,157,166). Die Prognose variiert von der kompletten Remission bis zum Tod und sie scheint besser zu sein für Patienten mit einem Manifestationsalter unter 2 Jahren (56,157).

1.3 Fragestellung

Diese Arbeit versucht, basierend auf der WHO-Klassifikation von 1996, das morphologische Spektrum der mittels Endomyokardbiopsien diagnostizierbarer Erkrankungen des Herzens bei Kindern und Jugendlichen von 0 bis 16 Jahren darzustellen.

Von großem Interesse war auch die Charakterisierung der entzündlichen Herzmuskelerkrankungen speziell bei Kindern und Jugendlichen in Form von histomorphologisch und immunhistochemisch nachweisbaren entzündlichen Infiltraten im Herzmuskelgewebe. Eine Definition verschiedener Krankheitsstadien zwischen der Myokarditis und der Kardiomyopathie, das heißt eine Erweiterung der Krankheitsentitäten eines entzündlich veränderten histopathologischen Bildes vom akuten Stadium über einen zusätzlich definierten chronischen Zustand bis hin zur Diagnose Zustand nach Myokarditis und dilatative Kardiomyopathie, folgte aus der Aufgabenstellung. Die Eingrenzung in definierte Diagnose-Gruppen, die Aufzeichnung der Häufigkeiten dieser Krankheitsentitäten sowie die Dokumentation der Geschlechterverteilung und die Verbindung zu den klinischen Diagnosen, die Anlass zu der Durchführung einer Endomyokardbiopsie gaben, waren Teil dieser Fragestellung.

Die dritte Aufgabenstellung bezog sich auf die Auswertung von zusätzlichen molekularpathologischen Untersuchungsmethoden wie die In-situ-Hybridisierung (ISH) und die Polymerase Ketten Reaktion (PCR) zur Aufdeckung einer viralen oder sonstigen Ätiologie und Pathogenese der entzündlichen Herzmuskelerkrankung bzw. einer Viruspersistenz im Myokard.

Mit Hilfe des klinischen Erfassungsbogens, der in den verschiedenen Kliniken ausgefüllt und zusammen mit den jeweiligen Endomyokardbiopsien übersandt wurde, war es möglich, einen Zusammenhang zwischen den histopathologischen Befunden und den klinischen Parametern wie Ejektionsfraktion, Dauer der Erkrankung und Medikation herzustellen.

2 Material und Methoden

2.1 Bioptisches Material

Untersucht wurden insgesamt 240 Endomyokardbiopsien (EMB) aus den Jahren 1993 bis 2005 von 205 Kindern und Jugendlichen bis zum 16. Lebensjahr. Bei 35 Patienten lagen konsekutive Biopsien vor. Die klinischen Symptome entsprachen den klinischen Verdachtsdiagnosen einer akuten oder chronischen Myokarditis, Erkrankungen aus dem Spektrum der Kardiomyopathien sowie Speicherkrankheiten und autoimmunologische Erkrankungen. Anamnese und Fragen bezüglich der Ätiologie sowie Therapie und klinischer Verlauf wurden mit Hilfe eines klinischen Erfassungsbogens dokumentiert und ausgewertet.

Eingesandt wurde das bioptische Material aus 91 kardiologischen Abteilungen und Kinderkliniken der gesamten Bundesrepublik, in denen mittels Herzkatheter bei Patienten mit entsprechender Verdachtsdiagnose Myokardbiopsien gewonnen wurden.

Die Erziehungsberechtigten aller Patienten gaben ihr schriftliches Einverständnis zur ätiologischen Abklärung des Krankheitsbildes ihrer nicht volljährigen Kinder und Jugendlichen. Die Daten wurden zusammengeführt, randomisiert und verschlüsselt in einer Datenbank elektronisch erfasst.

2.1.1 Auswahl der Biopsien

Vorab wurden Endomyokardbiopsien, deren Schnitt-Präparate technisch nicht einwandfrei waren, wie zum Beispiel Ausbleichung der Schnitt-Präparate selbst oder Ausbleichung der immunhistochemischen Färbungen der verschiedenen Zellpopulationen, nicht in die Studie aufgenommen. Zu kleine Biopsie-Schnitte wurden ebenfalls nicht verwendet.

Es wurden Erstbiopsien und Verlaufsbipsien ausgewertet.

2.1.2 Klinische Daten

Anhand der durch die Kliniken ausgefüllten Untersuchungsaufträge konnten bestimmte klinische Daten erhoben und ausgewertet werden. Es wurden folgende Parameter untersucht:

- **Klinische Diagnose:**

Die einsendende Klinik konnte eine Verdachtsdiagnose und mehrere Differentialdiagnosen angeben. Es wurde überprüft, inwieweit die morphologischen Diagnosen mit den klinischen Verdachtsdiagnosen übereinstimmen.

- **Dauer der Erkrankung:**

Die Kliniken nannten die Dauer der bestehenden Krankheitssymptome bis zu Biopsieentnahme. Bei der Datenerfassung wurde die Zeit in Monaten eingegeben. Ab einer Dauer von 15 Tagen wurde auf einen Monat aufgerundet. Die Zeit zwischen der Erstbiopsie und der konsekutiven Biopsie variierte und betrug zwischen 6 und 19 Monaten. Im Schnitt betrug die Zeitdauer zwischen Erstbiopsie und konsekutiver Biopsie 12,2 Monate.

- **Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF):**

Die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) ist die Menge Blut, die die linke Herzkammer während der Systole auswirft. Der Normwert der LVEF beträgt ca. 65% des Blutvolumens. Sie wird als Maß für die Leistungsfähigkeit der Herzmuskulatur angesehen. Ab einer LVEF von unter 45% liegt eine deutlich eingeschränkte Auswurfleistung vor. Die LVEF kann mittels Echokardiographie gemessen werden.

Es standen noch weitere Optionen zum klinischen Verlauf zur Verfügung: Angaben zu Infektanamnese, Familienanamnese, Begleiterkrankungen, Herzrhythmusstörungen, koronarer Herzerkrankung, echokardiographischen Parametern und zur Biopsieentnahmestelle konnten gemacht werden. Da diese Parameter nur sporadisch bei sehr wenigen Patienten angegeben wurden, wurden sie nicht in die Beurteilung aufgenommen.

2.2 Histologie und Immunhistologie

Das bioptische Material wurde formalinfixiert (5% Formalin in 0,15 molarem Phosphatpuffer) von den verschiedenen Kliniken eingesandt und für weitere Untersuchungen wie lichtmikroskopische Standardfärbungen, immunhistochemische Färbungen, elektronenmikroskopische und molekularbiologische Untersuchungen

aufbereitet. Die formalinfixierten Endomyokardbiopsien wurden routinemäßig in Paraffin eingebettet.

2.2.1 Konventionelle Standardfärbungen

2.2.1.1 Hämalaun-Eosin-Färbung

Hämalaun-Eosin ist die gebräuchlichste Übersichtsfärbung. Hämalaun ist ein Gemisch aus Hämatoxylin und Alaun. Es ist basisch und färbt Chromatin blau. Chromatin ist eine basophile Substanz im Karyoplasma, die im Wesentlichen aus DNA, RNA und Kernproteinen besteht.

Als Kontrast wird saures Eosin, das Zytoplasma und Interzellularsubstanz rosa färbt, verwendet.

2.2.1.2 Masson-Trichrom-Färbung

Bei allen Endomyokardbiopsien wurde eine Masson-Trichrom-Färbung durchgeführt. Diese dient zur Bestimmung des quantitativen Ausmaßes des interstitiellen Bindegewebes im Myokard, sowie zur qualitativen lichtmikroskopischen Beurteilung, insbesondere der nekrobiotischen Anteile.

Masson-Trichrom färbt mittels verschiedener Lösungen, wie Bibrich-Fuchsin-Rot, Phosphatmolybdän-Phosphat-Lösung, Bouin's-Flüssigkeit, Weigert's Eisen-Hämatoxylin und Anilin-Blau die Zellkerne schwarz, das Zytoplasma, Keratin und die Muskelfasern rot, Kollagenfasern und Muzine blau.

2.2.2 Immunhistochemische Färbungen

Durch die Anwendung von immunhistochemischen Färbungen werden immunologisch reaktive Strukturen auf oder innerhalb von Zellen dargestellt. Durch Antikörper-Farbkomplexe färben sich antigenträgende Strukturen im histologischen Präparat. Bei der vorliegenden Studie wurden dazu verschiedene Mausantikörper nach Vorbehandlung der histologischen Schnitte mit proteolytischen Enzymen verwendet (Tabelle III).

2.2.2.1 T-Lymphozyten

Zur Darstellung von T-Lymphozyten wurden monoklonale IgG1-Mausantikörper Anti-CD45R0, UCHL1 (Firma DAKO, Denmark) und Anti-CD3 (Firma Novocastra, UK) verwendet.

CD45R0 ist ein transmembranes Glykoprotein, das von den meisten kernhaltigen Zellen exprimiert wird. UCHL1 erkennt und bindet dieses 180kDa schwere Glykoprotein, das auf den meisten Thymozyten- und aktivierten T-Lymphozyten-Oberflächen, jedoch nicht auf ruhenden T-Lymphozyten zu finden ist.

CD3 besteht aus fünf Ketten und hat ein Molekulargewicht von 1628kDa. Die mittlere Dichte von CD3+ T-Lymphozyten beträgt im gesunden Herzgewebe <5,5 T-Lymphozyten/mm². Anti-CD3 erkennt den Oberflächenrezeptor.

2.2.2.2 Makrophagen

Zur Darstellung der Makrophagen wurde der monoklonale IgG1-Mausantikörperklon PGM1 oder KP1 (Firma DAKO, Denmark) eingesetzt. Mit Hilfe dieser Antikörper kann CD68, ein intracytoplasmatisches Antigen in den Lysosomen-Granula der Gewebsmakrophagen angefärbt werden.

2.2.2.3 Glatte Muskelzellen, Myofibroblasten, myoepitheliale Zellen

Diese Strukturen wurden mit Hilfe des monoklonalen IgG-Antikörpers Anti-Human smooth muscle actin (Firma DAKO, Denmark) dargestellt. Anti-SM-Aktin reagiert spezifisch mit der Alpha-Isoform der glatten Muskulatur, eine von 6 Isoformen mit einem Molekulargewicht von jeweils 42kDa, welche sich in ihren N-terminalen Enden unterscheiden.

Zielzellart	Benutzter Antikörper	Epitope
T-Lymphozyten	Anti-CD3 Anti-CD45R0 (UCHL1)	CD3-Oberflächenrezeptor Transmembranes Glykoprotein von CD45
Makrophagen	Anti-CD68 (KP1)	Zytoplasmatisches CD68-Antigen
Glatte Muskelzellen, Myofibroblasten, myoepitheliale Zellen	Anti-SM-Aktin	Zytoplasmatische Aktinfilamente

Tabelle III: Immunhistochemische Färbungen

2.3 Molekularpathologische Techniken

2.3.1 Polymerase Kettenreaktion (PCR)

Die molekularbiologische Untersuchung der Endomyokardbiopsien erfolgte mittels Polymerasekettenreaktion (PCR). Das Material wurde mit Primern kardiotroper viraler Genome wie Adenoviren, Epstein-Barr-Virus, Enteroviren der Coxsackie und Echovirusgruppe, Hepatitis C-Virus, Herpes simplex-Virus Typ 1 und 2, humanes Herpesvirus Typ 6, 7, 8, humanes Cytomegalievirus, Influenzavirus A und B und Parvovirus-B19 sowie auch mit Primern von anderen kardiotropen Mikroorganismen wie Borrellien und Chlamydien beschickt, wie bereits früher im Detail beschrieben (28). Eine quantitative PCR zur Bestimmung der Viruslast im Gewebe wurde nicht durchgeführt.

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) ist eine in-vitro Technik basierend auf der enzymatischen und selektiven Amplifikation von DNA-Abschnitten. Die PCR-Methode beruht auf der zyklischen Wiederholung von thermisch denaturierten DNA-Strängen, 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 Polymerisierungsprozess der thermostabilen DNA-Polymerase. Nach der Verdopplung der Einzelstränge wird die DNA erneut denaturiert und der Zyklus beginnt von neuem. Innerhalb kurzer Zeit kann so das zu bestimmende Genom um den Faktor 10^6 bis 10^7 vervielfältigt werden. Mittels Gelelektrophorese können die entstandenen Produkte aufgetrennt werden.

Die PCR kann in drei Phasen eingeteilt werden:

Denaturierung:

Zu Beginn des PCR-Zyklus wird bei 94°C der DNA-Doppelstrang des zu untersuchenden Erregers in seine zwei Einzelstränge aufgetrennt.

Annealing:

Anschließend wird der Primer hinzugegeben, der sich an die entsprechenden DNA-Abschnitte bei einer Temperatur von 54°C anlagert.

Extensionsphase:

Hier bilden sich mittels Polymerase bei einer Temperatur von 72°C neue DNA-Abschnitte.

Die in dieser Studie benutzte Methode der **nested PCR** ermöglicht es, virale Genome, die nur in sehr geringer Anzahl vorhanden sind, nachzuweisen. Nach dem ersten PCR-Zyklus liegt meist nicht genügend Material vor zur elektrophoretischen Darstellung. Daher wird mit einem zweiten Primer-Paar, das innerhalb des bereits amplifizierten Segmentes liegt, ein zweiter Zyklus durchgeführt. Hierdurch wird die Sensitivität erhöht und die Nachweisgrenze des viralen Genoms deutlich verbessert.

2.3.2 In situ Hybridisierung (ISH)

Zur topographischen Lokalisation von viralen Genomen im Herzmuskelgewebe wurden molekularpathologische Verfahren wie die in situ Hybridisierung verwendet (28). Hierbei wird die Proben-DNA mit Nukleinsäuren beschickt und durch starkes Erhitzen denaturiert. Die Hybridisierung wird durch langsames Abkühlen eingeleitet. Der Nachweis gelingt mit verschiedenen Methoden, bei denen je nach Markierungsart, z.B.

Chemolumineszenz, Photobiotin oder mit Hilfe von Antigen-Antikörperkomplexen die viralen Genome sichtbar gemacht werden. Als Positivfaktor ist die Sensitivität, als Negativfaktor die lange Zeitspanne bis zum Ergebnis zu werten. Teilweise beträgt diese bis zu 3 Wochen.

2.4 Datenerfassung und klinischer Erfassungsbogen

Für die Datenerfassung wurden für diese Studie angefertigte Erfassungsbögen an die jeweiligen Kliniken verschickt und ausgewertet, so dass neben morphologischer Haupt- und Begleitdiagnose, molekularpathologischen und immunhistochemischen Befunden auch klinische Parameter berücksichtigt wurden. Die jeweiligen Diagnosen wurden retrospektiv ausgewertet. Zum Teil erfolgte eine Nachbefundung, die dann als Haupt- bzw. Enddiagnose in die Auswertung mit einging.

2.4.1 Klinischer Erfassungsbogen

Die klinischen Parameter der einzelnen Patienten wurden mittels eines Datenerfassungsbogens, der von dem zuständigen Stationsarzt ausgefüllt wurde, erfasst und ausgewertet (s.o. 2.1.3 Klinische Daten). Die restlichen Parameter wurden den entsprechenden Akten und Befunden des Institutes für Pathologie der Universität Tübingen entnommen und zunächst auf einem Dokumentationsbogen festgehalten.

Alle Daten wurden anschließend zahlenverschlüsselt in eine Datenbank eingegeben, in der für jeden einzelnen Patienten folgende Parameter dokumentiert wurden:

1. Patientenkenndaten
2. Material und Diagnose
3. Klinischer Befund
4. Färbungen/Immunhistochemie/Elektronenmikroskopie
5. PCR

- 6. In situ Hybridisierung
- 7. Morphometrische Ergebnisse

Klinischer Erfassungsbogen Endomyokardbiopsien

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

Klinische Diagnose:

- V.a. Myokarditis** akut chronisch
- V.a. dilatative Kardiomyopathie** beginnend Vollbild
- V.a. hypertrophe Kardiomyopathie** obstruktiv nicht obstruktiv
- V.a. Speicherkrankheit**
- V.a. Transplantatabstoßung**
- V.a. Alkoholabusus**
- V.a. KHK** Infarkt **Lokalisation:**
- V.a. Sonstiges**

Anamnese:

Beginn kardialer Erkrankung (Monate):

Infektanamnese: **nein:** **viral:** **bakt.:** **Parasiten:**
Familienanamnese: **nein:** **Herzerkrankung:** **sonstiges:**
Begleiterkrankungen: **nein:** **Hypertonie:** **Herzklappenerkr.:**
Nierenerkrankungen:
Sonstiges: **Autoimmunerkrankung:**
Herzrhythmusstörung:
Therapie:

Symptomatisch, mit:

Immunsuppressiv, mit:

Interferon:

Klinik:

Herzinsuffizienz: **nein:** **NYHA:**
Arrhythmie: **nein:** **ja:** **Art:**
Perikarderguss: **nein:** **ja:** **Größe:** **ml**

Echokardiographie:

Auswurfraction: (LVEF) %

Linksventrikulärer enddiastolischer Druck (LVEDP):

Pulmonalarterieller Mitteldruck (Ruhe):

Pulmonalarterieller Mitteldruck (Belastung):

Coronare Herzerkrankung: **nein:** **ja:** **Art:**

Endomyokardbiopsie:

Erstbiopsie **Verlaufsbiopsie**

Biopsieentnahmestelle: **LV** **RV** **Sonstiges**

Anzahl der Biopsien:

Klinischer Verlauf seit Erstbiopsie:

- verbessert** **unverändert** **verschlechtert**
- HTX** **verstorben**

2.5 Histologische, immunhistochemische und molekularpathologische Befundung der Endomyokardbiopsien

2.5.1 Einteilung der Kardiomyopathien nach der WHO/ISFC Klassifikation von 1996

Die 1996 publizierte WHO/ISFC-Klassifikation (135) definiert Kardiomyopathien als Erkrankungen des Herzmuskels, die mit einer objektivierbaren kardialen Funktionsstörung einhergehen. Demnach werden folgende sechs Kardiomyopathie-Formen unterschieden (s. auch Tabelle I):

1. Dilatative Kardiomyopathie (DCM)
2. Hypertrophische Kardiomyopathie (HCM)
3. Restriktive Kardiomyopathie (RCM)
4. Arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie (ARVC)
5. Nichtklassifizierbare Kardiomyopathien (NKCM)
6. Spezifische Kardiomyopathien (SCM)

2.5.2 Histologische und immunhistologische Klassifikation der Myokarditiden nach Dallas und ISFC

1986 haben acht Pathologen die Dallas-Kriterien aufgestellt um einheitliche und reproduzierbare morphologische Kriterien zur Diagnostik von Myokarditiden anhand von Endomyokardbiopsien festzulegen (9). Die Dallas-Kriterien unterscheiden zwei getrennte Klassifikationen: Eine für die Erstbiopsie und die zweite für die konsekutiven Biopsien bei ein und demselben Patienten (Tabelle IV).

Unterscheidungen bei der Erstbiopsie	Unterscheidungen bei Folgebiopsien
Aktive/akute Myokarditis	Fortschreitende Myokarditis
Borderline Myokarditis	Abheilende Myokarditis
Keine Myokarditis	Abgeheilte Myokarditis

Tabelle IV: Dallas-Klassifikation der Myokarditis

Die Dallas-Klassifikation basiert auf histologischen Routinefärbungen. Durch die Einführung der Immunhistologie gelang es, eine bessere Charakterisierung des entzündlichen Exsudates herbeizuführen. Deshalb haben zwei Expertengruppen der International Society and Federation of Cardiology (ISFC) in Konsensuskonferenzen 1998 die immunhistologischen Kriterien der inflammatorischen Kardiomyopathie als ein entzündliches Exsudat von >14 Lymphozyten bzw. Makrophagen/ mm^2 definiert (99).

Zusätzlich eingeführt wurde sowohl bei Erstbiopsien als auch bei konsekutiven Biopsien der Begriff Borderline und/oder chronische Myokarditis mit begleitender interstitieller Fibrose (DCMi) (99).

2.6 Statistische Auswertung

Eine statistische Auswertung erfolgte nicht, da in Rücksprache mit dem Institut für Biometrie, Universität Tübingen, nicht genügend Daten zur Verfügung standen, um ausreichend aussagekräftige Erhebungen durchführen zu können.

3 Ergebnisse: Allgemeiner Teil

3.1 Charakterisierung des Patientengutes

Die Arbeit umfasst 205 Kinder und Jugendliche im Alter zwischen 0,1 und 16 Jahren, deren Endomyokardbiopsien von 1993 bis 2005 am Institut für Pathologie der Universität Tübingen untersucht wurden. Bei 35 Patienten lagen konsekutive Endomyokardbiopsien vor. Erfasst wurden zunächst die retrospektiven Daten pro Patient auf dem Dokumentationsbogen für Histologie/Immunhistologie/Molekularpathologie bei insgesamt 205 Patienten. Anschließend wurden diese in die Datenbank für Myokardbiopsien verschlüsselt eingegeben.

Ebenfalls erfasst und verschlüsselt wurden die Parameter Alter, Geschlecht, klinische Verdachtsdiagnose, Diagnose nach lichtmikroskopischer Beurteilung, nach immunhistologischen Färbetechniken, nach Elektronenmikroskopie sofern durchgeführt, und die Enddiagnose nach dem Ergebnis molekularpathologischer Befunde.

3.2 Gruppeneinteilung

Das breite Spektrum der einzelnen morphologischen Diagnosen wurde auf 12 verschiedene Gruppen reduziert und als solche verschlüsselt registriert.

Folgende histologische Diagnosen wurden erfasst für Erstbiopsien und konsekutive Biopsien:

- DIAGNOSE 1:** Kein pathologischer Befund
- DIAGNOSE 2:** Akute Myokarditis
- DIAGNOSE 3:** Borderline Myokarditis
- DIAGNOSE 4:** Borderline Myokarditis mit interstitieller Fibrose (DCMi)
- DIAGNOSE 5:** Zustand nach Myokarditis (abgeheilte Myokarditis)

- DIAGNOSE 6:** Chronische Myokarditis
- DIAGNOSE 7:** Dilatative Kardiomyopathie (DCM)
- DIAGNOSE 8:** Restriktive Kardiomyopathie (RCM)
- DIAGNOSE 9:** Hypertrophische Kardiomyopathie (HCM)
- DIAGNOSE 10:** Arrhythmogene Rechtsventrikuläre Kardiomyopathie (ARVC)
- DIAGNOSE 11:** Fibroelastose
- DIAGNOSE 12:** Sonstige: Diese Gruppe umfasst Patienten mit Diagnosen wie: Friederreich'sche Ataxie, WPW-Syndrom, Endokardfibrose/Endokarditis aber auch Endomyokardbiopsien, die nicht ausgewertet werden konnten, weil sie beispielsweise nur Endokardgewebe oder Anteile eines Thrombus enthielten.

3.3 Altersverteilung

Die in die Studie aufgenommenen Patienten waren zwischen 0,1 und 16 Jahren alt mit einem Durchschnittsalter von 8,21 Jahren, wobei männliche Patienten im Durchschnitt 7,93 Jahre alt und weibliche Patienten 8,49 Jahre alt waren. Selbst wenn die jüngsten und die ältesten Patienten aus dieser Berechnung ausgenommen wurden, blieb das Durchschnittsalter nahezu konstant.

3.4 Geschlechterverteilung

Bei der Geschlechterverteilung überwog insgesamt das weibliche Geschlecht mit 51,2% (n=105).

In den einzelnen Diagnose-Gruppen erwies sich die Geschlechterverteilung als sehr unterschiedlich (s. Abb. 2):

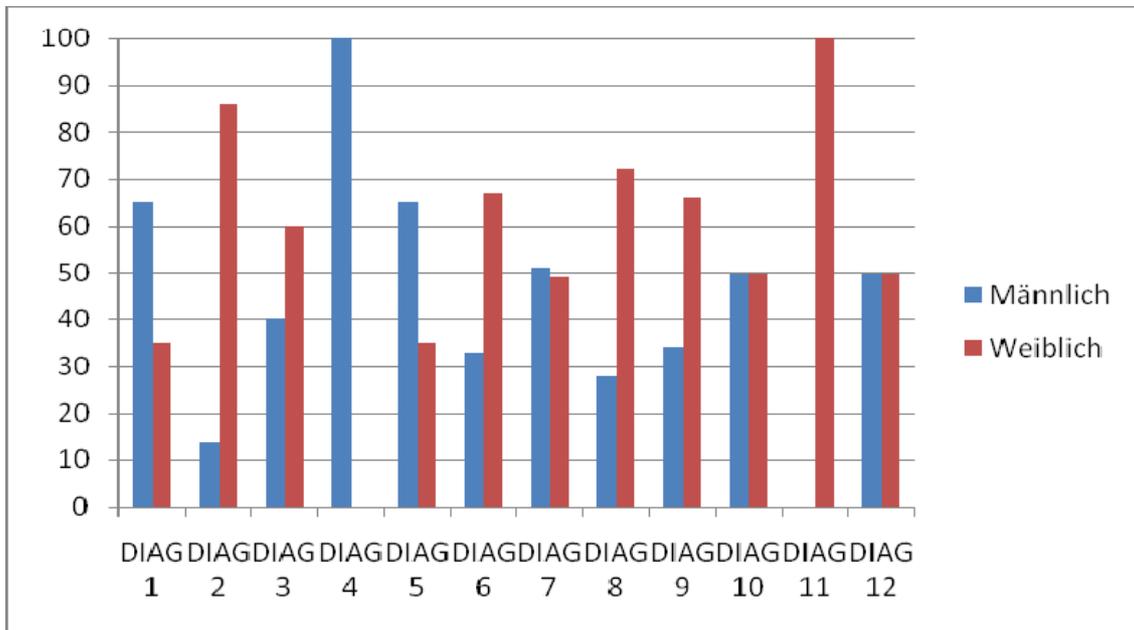


Abbildung 2: Geschlechterverteilung

DIAG 1= Kein pathologischer Befund

DIAG 2= Akute Myokarditis

DIAG 3= Borderline Myokarditis

DIAG 4= DCMi

DIAG 5= Zustand nach Myokarditis (abgeheilte Myokarditis)

DIAG 6= Chronische Myokarditis

DIAG 7= DCM

DIAG 8= RCM

DIAG 9= HCM

DIAG 10= ARVC

DIAG 11= Fibroelstose

DIAG 12= Sonstige

4 Ergebnisse: Spezieller Teil

4.1 Ergebnisse der histologischen und immun-histologischen Untersuchungen

4.1.1 Histologische und immunhistologische Diagnosen bei den Erstbiopsien

Bei insgesamt 205 Patienten lagen Erstbiopsien vor.

Die histopathologische Auswertung erfolgte in Übereinstimmung mit den Dallas-Kriterien für Myokarditiden und der WHO/ISFC-Klassifikation für Kardiomyopathien.

Ohne Kenntnis der klinischen und molekularpathologischen Ergebnisse wurden bei den insgesamt 205 Patienten folgende histologischen und immunhistologischen Diagnosen in den Erstbiopsien gestellt:

Kein pathologischer Befund	n=20
Akute Myokarditis	n=9
Borderline Myokarditis	n=39
DCMi	n=3
DCM	n=81
RCM	n=7
HCM	n=6
ARVC	n=2
Fibroelastose	n=2
Sonstige	n=36

Im Folgenden werden die histologischen und immunhistologischen Befunde beschrieben.

4.1.1.1 Morphologische Diagnosen (Dallas-Kriterien und WHO/ISFC-Klassifikation) bei der Erstbiopsie

- **Akute Myokarditis: n=9 Patienten**

Bei der akuten/aktiven Myokarditis zeigten sich fokale oder multifokale Myocytennekrosen, teils konfluierend, sowie myofibrilläre Degeneration, ein ausgeprägtes interstitielles Ödem und ein deutliches entzündliches Infiltrat (s. Abbildung 3) das immunhistologisch durch reichlich CD3-positive T-Lymphocyten und CD68-positive Makrophagen gekennzeichnet war (s. Abbildung 3).

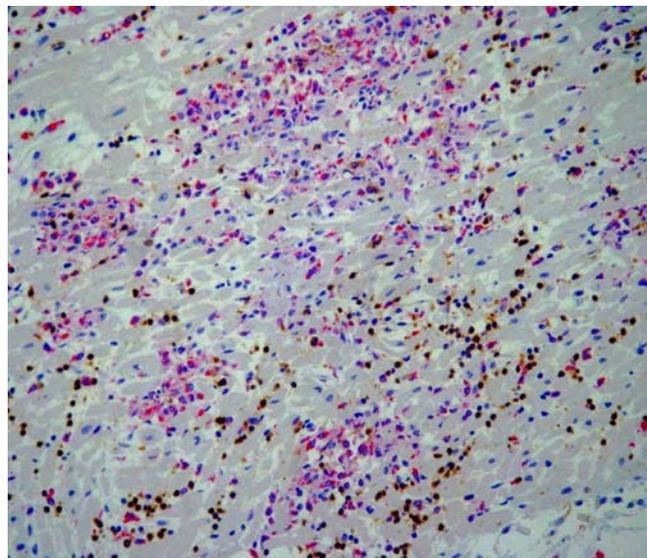


Abbildung 3: Akute Myokarditis mit Bereichen myokardialer Nekrosen, die durch CD3+ Lymphocyten (rot) und PGM1-positiven Makrophagen (braun) infiltriert wurden (immunhistologische Doppelfärbung)

- **Borderline Myokarditis: n=39 Patienten**

Histologisch zeigten sich leichte bis mittelgradige Kaliberschwankungen der Myozyten ohne Myozytennekrosen und eine erhöhte Anzahl an interstitiellen Makrophagen. Das entzündliche Infiltrat war im Vergleich zu den Patienten mit akuter Myokarditis geringer ausgeprägt (s. Abbildung 4), T-Lymphocyten waren nur vereinzelt nachweisbar.

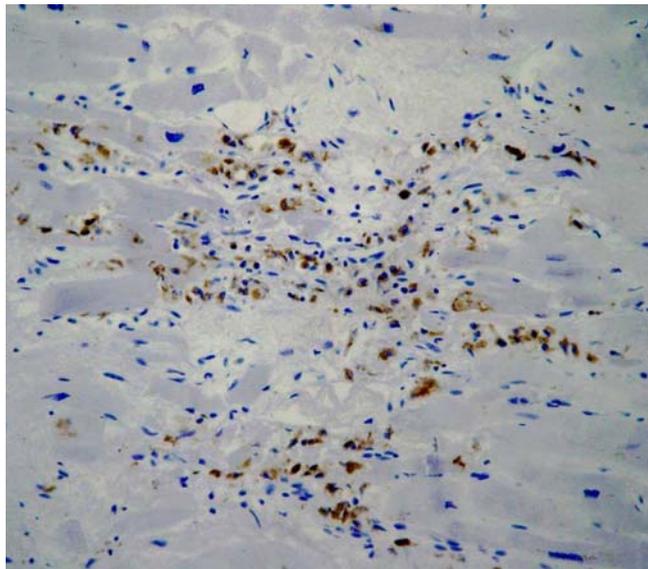


Abbildung 4: Borderline Myokarditis: immunhistologische Anfärbung: CD68-positive Makrophagen (braun)

- **Borderline Myokarditis mit interstitieller Fibrose (DCMi): n=3 Patienten**

Zusätzlich zu den histologischen und immunhistologischen Kriterien der Borderline Myokarditis sind in den Endomyokardbiopsien ausgedehnte interstitielle Fibroseareale im Myokardgewebe nachweisbar (sog. Replacementfibrose) (s. Abbildung 5).

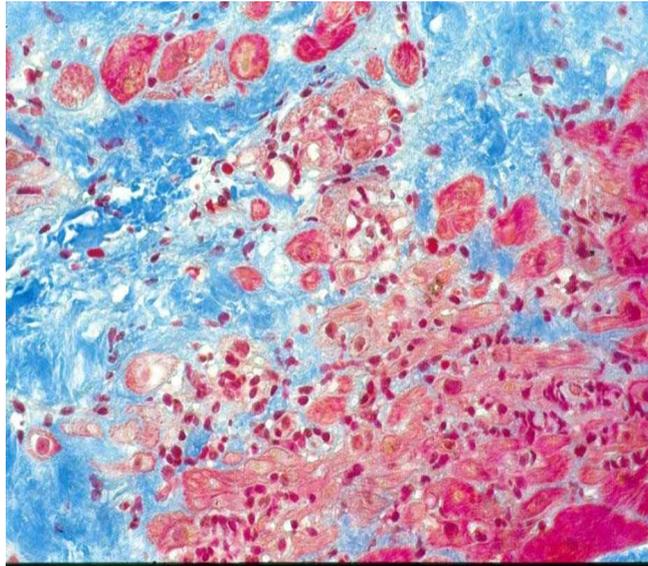


Abbildung 5: DCMi mit Entzündung Masson-Trichrom Färbung: blau: interstitielle (Replacement-)Fibrose

● **Dilatative Kardiomyopathie (DCM): n=81 Patienten**

Bei der DCM zeigt sich eine irreguläre Hypertrophie der Myozyten mit teils hyperchromatischen Zellkernen und einer Vakuolisierung des Sarkoplasmas in Begleitung einer fokalen bis multifokalen oder netzförmigen interstitiellen Fibrosierung. Ein entzündliches Infiltrat zeigte sich nicht (s. Abbildung 6).

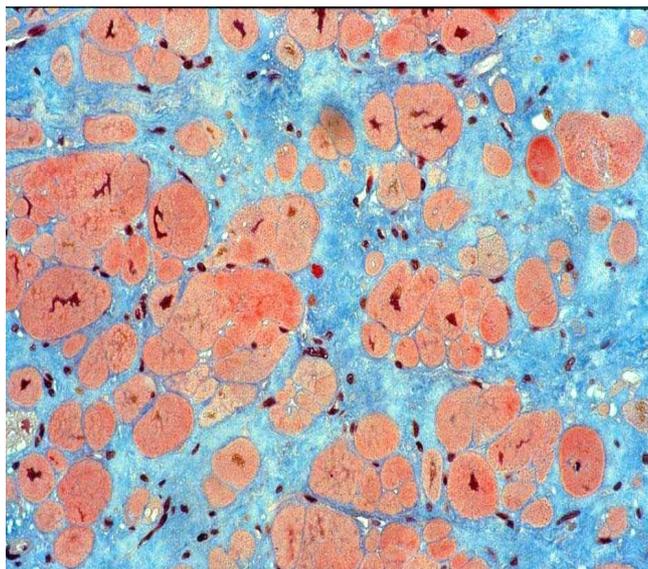


Abbildung 6: Dilatative Kardiomyopathie: Masson-Trichrom Färbung

- **Restriktive Kardiomyopathie (RCM): n=7 Patienten**

Die Endomyokardbiopsien sind histologisch charakterisiert durch eine multifokal auftretende, nicht netzförmige interstitielle Fibrose bei unauffälligen Herzmuskelzellen. Ein entzündliches Exsudat fehlt (s. Abbildung 7).

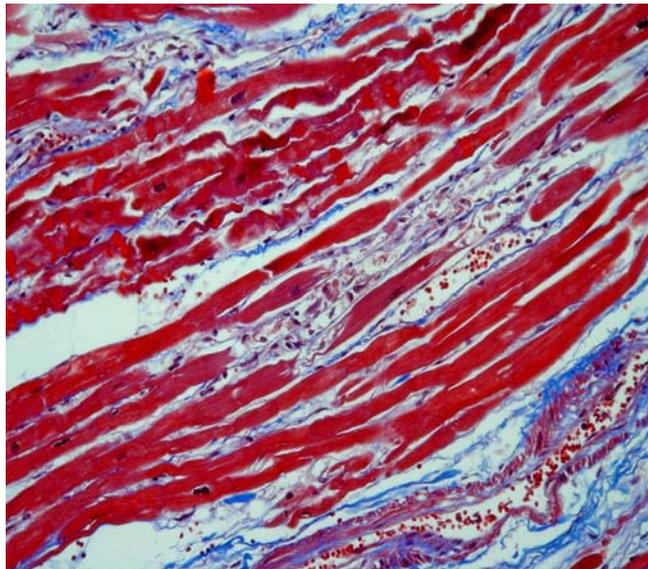


Abbildung 7: Restriktive Kardiomyopathie: Masson-Trichrom Färbung

- **Hypertrophische Kardiomyopathie (HCM): n=6 Patienten**

Die Herzmuskelstruktur ist charakterisiert durch eine deutliche Texturstörung erkennbar an einer irregulären Anordnung und Aufzweigung von Herzmuskelzellen, umschriebene interstitielle Fibroseareale und stark hyperchromatische Zellkerne der Myozyten. Ein entzündliches Exsudat fehlt (s. Abbildung 8).

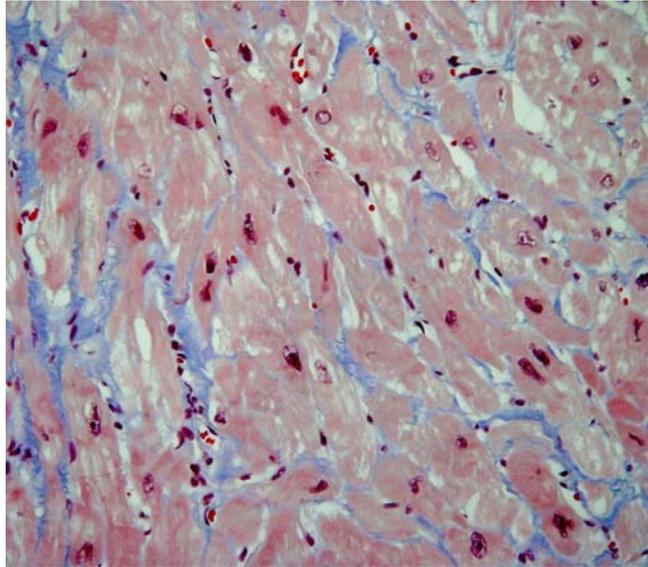


Abbildung 8: Hypertrophische Kardiomyopathie: Masson-Trichrom Färbung

- **Arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie (ARVC): n=2 Patienten**

Das rechtsventrikuläre Myokard ist histologisch charakterisiert durch eine massive Durchwachsung mit reifen Fettzellen, zum Teil in Kombination mit unterschiedlich stark ausgeprägten Fibrosearealen. Ein entzündliches Exsudat fehlt (s. Abbildung 9).

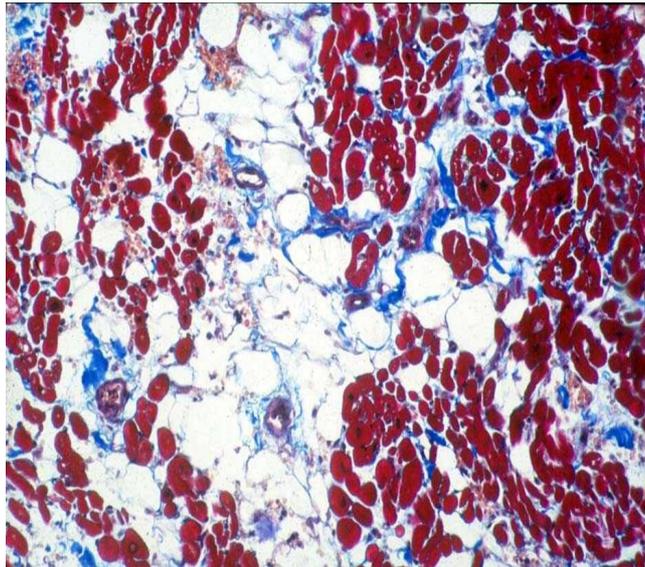


Abbildung 9: Arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie: Masson-Trichrom Färbung

● **Fibroelastose: n=2 Patienten**

Die Herzkammerwände werden ausgekleidet von einem verdickten Endokard aufgebaut aus fraktionierten elastischen Fasern mit Ausbildung von bindegewebigen Septen, die in das tiefer liegende Myokard einstrahlen bei gleichzeitiger Unterbrechung des subendokardial gelegenen Reizleitungssystems (s. Abbildung 10).

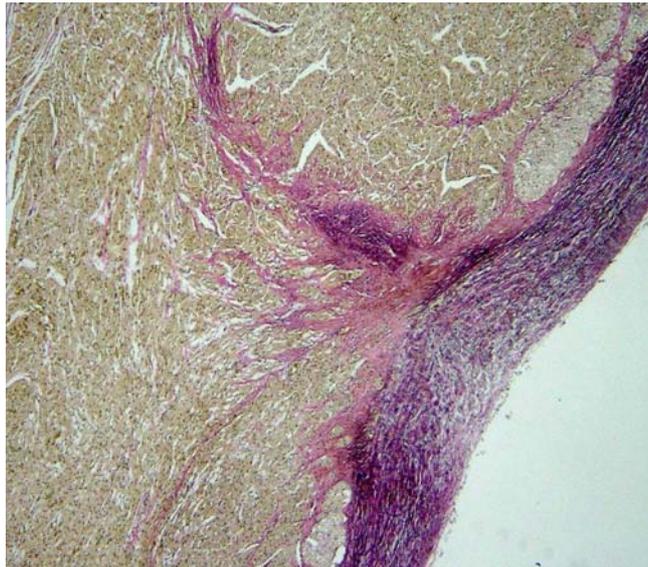


Abbildung 10: Fibroelastose: Elastika van Gieson Färbung

● **Sonstige: n=36 Patienten**

Diese inhomogene Gruppe setzte sich aus verschiedenen Diagnosen zusammen, die bei der vornehmlichen Fragestellung für die weitere Auswertung der zu untersuchenden Parameter nicht sinnvoll erschienen. Es handelte sich dabei um folgende Diagnosen: Endokardgewebe, Thrombus, reaktive gleichmäßige Hypertrophie, toxisch bedingte Veränderungen, unspezifische Begleitreaktion, Friederreich'sche Ataxie, Transplantat-Abstoßungsreaktion, Fibrose, Endokardfibrose.

4.1.2 Histologische und immunhistologische Diagnosen bei den konsekutiven Biopsien

Bei insgesamt 35 Patienten lagen konsekutive Biopsien vor. Die Zeitdauer zwischen der ersten und konsekutiven Biopsie lag bei durchschnittlich 12,2 Monaten. Folgende Diagnosen wurden gestellt:

Zustand nach Myokarditis **n=26**

Chronische Myokarditis **n=4**

DCM **n=5**

4.1.2.1 Morphologische Diagnosen (Dallas-Kriterien und WHO/ISFC-Klassifikation) bei den konsekutiven Biopsien:

- **Zustand nach Myokarditis: n=26 Patienten**

Die Histologie ist gekennzeichnet durch multifokale Areale mit Replacementfibrose. Eine Entzündungsreaktion fehlt. Die morphologischen Kriterien einer dilatativen Kardiomyopathie werden noch nicht erreicht (s. Abbildung 11).

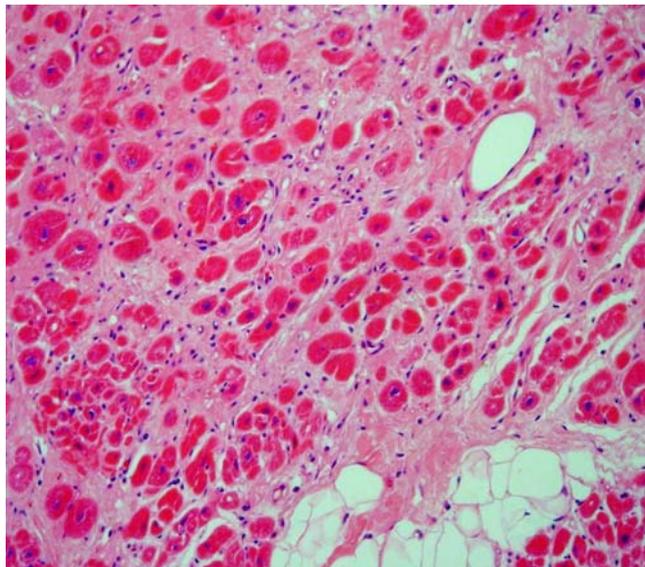


Abbildung 11: Zustand nach Myokarditis: Masson-Trichrom Färbung

- **Chronische Myokarditis: n=4 Patienten**

Die Diagnose "chronische Myokarditis" erfolgte in Anlehnung an die Dallas-Klassifikation nur bei konsekutiven Biopsien, da nur der Vergleich mit einer vorherigen Biopsie die Feststellung einer Chronifizierung zulässt. Eine chronische Myokarditis erfordert ein entzündliches Infiltrat von ähnlicher Ausdehnung wie bei der Borderline Myokarditis (s. Abbildung 12).

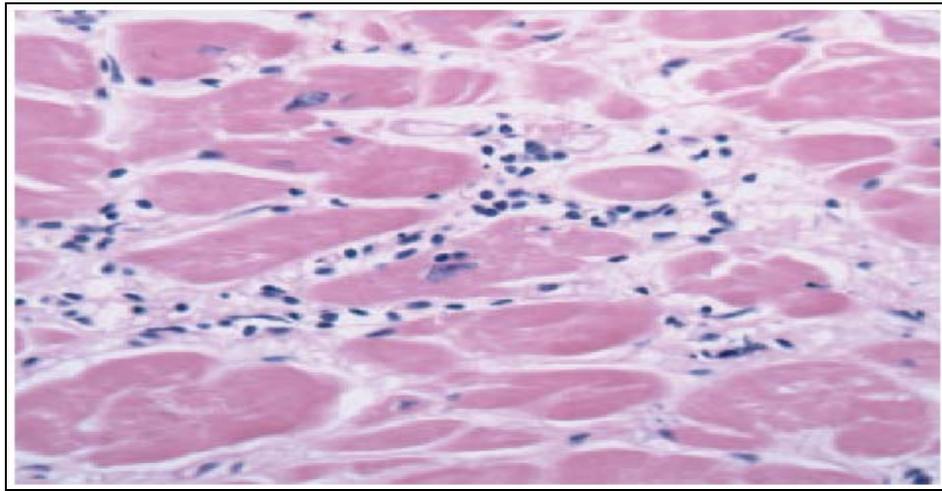


Abbildung 12: Chronische Myokarditis: makrophagenreiches Infiltrat ohne Myocyten-Nekrosen

- **Dilatative Kardiomyopathie (DCM): n=5 Patienten**

Eine in der Erstbiopsie gesicherte dilatative Kardiomyopathie wurde bei den konsekutiven Biopsien bei insgesamt 5 Patienten bestätigt (siehe Abb. 6).

4.2 Molekularpathologische Untersuchungen

An molekularpathologischen Techniken wurden die Polymerase Kettenreaktion und die In Situ Hybridisierung durchgeführt. Die Ergebnisse wurden direkt in die Datenbank eingegeben, die Auswertung erfolgte nach positiven und negativen Ergebnissen, die restlichen, nicht verwertbaren Ergebnisse erhielten die Bezeichnung: „keine Angabe“. Zu dieser Gruppe gehören Myokardbiopsien, die aufgrund der geringen Größe nicht bearbeitet werden konnten, solche die unsachgemäß fixiert verschickt worden sind oder Myokardbiopsien, die lediglich zur histopathologischen Begutachtung eingesandt worden sind und daher die Anforderung für eine molekularpathologische Untersuchung fehlte.

4.2.1 Polymerase Kettenreaktion (PCR)

Mittels PCR wurden die einzelnen Endomyokardbiopsien auf das Vorhandensein von kardiotropen Erregern untersucht. Erfasst wurden die Ergebnisse der PCR schwerpunktmäßig für folgende kardiotope Viren und Mikroorganismen: Enteroviren, Echoviren, Adenoviren, Parvovirus B19 (PVB19), Humanes Cytomegalievirus (HCMV), Chlamydien, Epstein Barr Virus (EBV) und „Sonstige“, darunter Borrelien, Herpes simplex Virus 1, 2 (HSV), Humanes Herpesvirus 6,7,8 (HHV) Influenza A, B und Hepatitis-C Virus (HCV). Die Gruppe der Enteroviren umfasst die verschiedenen Coxsackie-Viren.

Die PCR-Untersuchung wurde bei allen der 205 Patienten (insgesamt 205 Erst- und 35 konsekutive Biopsien) durchgeführt. Für die 240 Endomyokardbiopsien wurden insgesamt 975 PCR durchgeführt. Diese Zahl kommt dadurch zustande, dass die EMB eines Patienten gleichzeitig auf mehrere Erreger untersucht wurde. Im Schnitt wurden pro EMB ca. 4 PCR durchgeführt.

Insgesamt waren bei 60 der insgesamt 205 Patienten die untersuchten EMBs positiv auf virale Genome oder Chlamydien, davon 52 Patienten in der Erstbiopsie (25,4 %) und 8 Patienten (22,8 %) in der konsekutiven Biopsien.

Für die einzelnen Erreger wurden die positiven und die negativen PCR-Ergebnisse erfasst und in Tabelle V zusammengefasst:

Erreger	Gesamtzahl PCR	Positiv Patienten
Enteroviren (Coxsackie)	n=216	n=9
Echoviren	n=36	n=0
Adenoviren	n=200	n=1
PVB19	n=140	n=32
HCMV	n=173	n=2
Chlamydien	n=76	n=1
EBV	n=95	n=10
Sonstige	n=39	n=5 HHV8 n=1, Borrelien n=1, HCV n=1, HSV1 n=1, Influenza A n=1

Tabelle V: PCR-Ergebnisse: Häufigkeit einzelner Erreger

Auch die Anzahl von insgesamt n=60 Virus-positiven Patienten bezogen ergab sich folgende protenuale Häufigkeit für die einzelnen Erreger: PVB19=53,4 %, EBV=16,6 %, Coxsackieviren=15 % und sonstige Erreger (Adenoviren, HCMV, HHV8, HCV, HSV1, Influenza A, Chlamydien) = 15 %

4.2.1.1 Zuordnung der Ergebnisse der PCR-Untersuchung zu den histologischen Befunden bei Erstbiopsien

Insgesamt wurden 205 Erstbiopsien mittels PCR untersucht.

- **Histologie: kein pathologischer Befund** (gestellt bei n=20 EMBs)

Positive PCR: PVB19	n=1 Patient
Borrelien	n=1 Patient
Gesamt	2 Patienten von n=20

- **Histologie: Akute Myokarditis** (gestellt bei n=9 EMBs)

Positive PCR: Enteroviren (Coxsackie)	n=2 Patienten
PVB19	n=3 Patienten
HCMV	n=1 Patient
Gesamt	6 Patienten von n=9

- **Histologie: Borderline Myokarditis** (gestellt bei n=39 EMBs)

Positive PCR: Enteroviren (Coxsackie)	n=4 Patienten
Adenoviren	n=1 Patient
PVB19	n=9 Patienten
EBV	n=1 Patient
HHV8	n=1 Patient
Gesamt	16 Patienten von n=39

- **Histologie: DCMI** (gestellt bei n=3 EMBs)

Positive PCR	n=0 Patienten
--------------	---------------

• **Histologie: DCM** (gestellt bei n=81 EMBs)

Positive PCR: PVB19	n=11 Patienten
Chlamydien	n=1 Patient
EBV	n=4 Patienten
HSV1	n=1 Patient
Influenza A	n= 1 Patient
Gesamt	18 Patienten von n=81

• **Histologie: RCM** (gestellt bei n=6 EMBs)

Positive PCR: EBV	n=1 Patient
Gesamt	1 Patient von n=6

• **Histologie: HCM** (gestellt bei n=7 EMBs)

Positive PCR: Enteroviren (Coxsackie)	n=1 Patient
Gesamt	1 Patient von n=7

• **Histologie: ARVC** (gestellt bei n=2 EMBs)

Positive PCR: HCV	n=1 Patient
Gesamt	1 Patient von n=2

• **Histologie: Fibroelastose** (gestellt bei n=2 EMBs)

Positive PCR	n=0 Patienten
--------------	---------------

- **Histologie: Sonstige** (gestellt bei n=36 EMBs)

Positive PCR: Enteroviren (Coxsackie)	n=2 Patienten
PVB19	n=2 Patienten
HCMV	n=1 Patient
EBV	n=2 Patienten
Gesamt	7 Patienten von n=36

4.2.1.2 Zuordnung der Ergebnisse der PCR-Untersuchungen zu den histologischen Befunden bei konsekutiven Biopsien

- **Histologie: Zustand nach Myokarditis** (gestellt bei n=26 EMBs)

Positive PCR: PVB19	n=3 Patienten
EBV	n=2 Patienten
Gesamt	5 Patienten von n=26

- **Histologie: Chronische Myokarditis** (gestellt bei n=4 EMBs)

Positive PCR: PVB19	n=1 Patient
Gesamt	1 Patient von n=4

- **Histologie: DCM** (gestellt bei n=5 EMBs)

Positive PCR: PVB19	n=2 Patienten
Gesamt	2 Patienten von n=5

4.2.2 In situ Hybridisierung (ISH)

Bei 185 von 240 untersuchten Erst- und Konsekutivbiopsien von insgesamt 205 Patienten wurde eine ISH durchgeführt für folgende Erreger: .Enteroviren, Adenoviren, Parvovirus B19 (PVB19) und Epstein Barr Virus (EBV).

Die mikroskopische Auswertung der ISH-Präparate gestaltete sich schwierig, weil die positiven Signale keinem zellulären Compartment des Herzmuskelgewebes sicher zugeordnet werden konnten. Lediglich bei zwei Patienten mit einer akuten Virusmyokarditis konnten die Zielzellen sicher bestimmt werden: Bei einem Patienten mit einer PVB19-assoziierten akuten Myokarditis konnten die Kapillarendothelien (Abb. 13, bei einem zweiten Patienten mit einer Coxsackie-B3-assoziierten akuten Myokarditis die Herzmuskelzellen (siehe Abb. 14 als Zielzellen sicher identifiziert werden.

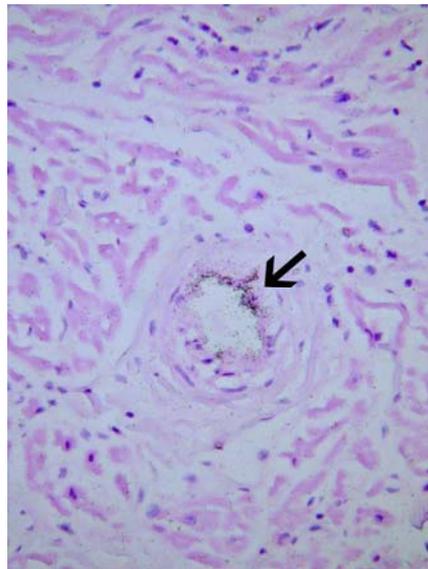


Abbildung 13: ISH: PVB19 Virus infizierte Endothelzellen

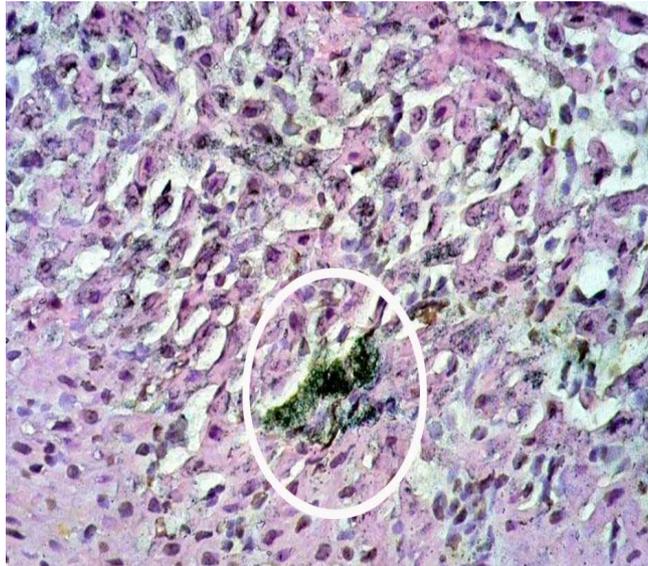


Abbildung 14: ISH: Coxsackie B-3-infizierte Herzmuskelzelle (Kreis)

4.3 Klinische Daten

4.3.1 Übereinstimmung der morphologischen Hauptdiagnosen mit den klinischen Verdachtsdiagnosen

4.3.1.1 Morphologische Hauptdiagnosen und klinische Verdachtsdiagnosen bei den Erstbiopsien

• **Histologie: Kein Pathologischer Befund:** n=20

Klinische Verdachtsdiagnosen:	Akute Myokarditis	n=6	30%
	DCM	n=6	30%
	Chronische Myokarditis	n=4	20%
	DCMi	n=3	15%
	Fibroelastose	n=1	5%

• **Histologie: Akute Myokarditis:** n=9

Klinische Verdachtsdiagnosen:	Akute Myokarditis	n=8	89%
	DCM	n=1	11%

• **Histologie: Borderline Myokarditis:** n=39

Klinische Verdachtsdiagnosen:	Chronische Myokarditis	n=5	13%
	DCM	n=17	43,2%
	DCMi	n=10	26%
	Akute Myokarditis	n=2	5.1%
	RCM	n=2	5.1%
	Z.n. Myokarditis	n=2	5.1%
	Fibroelastose	n=1	2.5%

• Histologie: DCMi: n=3

Klinische Verdachtsdiagnosen:	DCMi	n=2	67%
	DCM	n=1	33%

• Histologie: DCM: n=81

Klinische Verdachtsdiagnosen:	DCM	n=58	72%
	Akute Myokarditis	n=12	15%
	Chronische Myokarditis	n=5	6%
	DCMi	n=2	3%
	HCM	n=1	1%
	Spongy myocardium	n=1	1%
	Akute Virusmyokarditis	n=1	1%
	Z.n. Myokarditis	n=1	1%

• Histologie: RCM: n=6

Klinische Verdachtsdiagnosen:	RCM	n=6	100%
-------------------------------	-----	-----	------

• Histologie: HCM: n=7

Klinische Verdachtsdiagnosen:	HCM	n=7	100%
-------------------------------	-----	-----	------

• Histologie: ARVD: n=2

Klinische Verdachtsdiagnosen:	ARVD	n=2	100%
-------------------------------	------	-----	------

• **Histologie: Fibroelastose:** n=2

Klinische Verdachtsdiagnosen:	Fibroelastose	n=2	100%
-------------------------------	---------------	-----	------

• **Histologie: Sonstige:** n=36

Klinische Verdachtsdiagnosen:	DCM	n=10	28%
	Sonstige	n=7	18%
	Chronische Myokarditis	n=5	14%
	Akute Myokarditis	n=4	11%
	HCM	n=3	8%
	DCMi	n=2	6%
	RCM	n=1	3%
	Spongy myocardium	n=1	3%
	Akute Virusmyokarditis	n=1	3%
	Chron. Virusmyokarditis	n=1	3%
	ARVC	n=1	3%

4.3.1.2 Morphologische Hauptdiagnosen und klinische Verdachtsdiagnosen bei den konsekutiven Biopsien

- **Histologie: Chronische Myokarditis:** n=4

Klinische Verdachtsdiagnosen:	Z.n. Myokarditis	n=1	25%
	DCM	n=3	75%

- **Histologie: Zustand nach Myokarditis:** n=26

Klinische Verdachtsdiagnosen:	Z.n. Myokarditis	n=4	16%
	DCM	n=10	38%
	Akute Myokarditis	n=6	23%
	Borderline Myokarditis	n=5	19%
	DCMi	n=1	4%

- **Histologie: DCM:** n=5

Klinische Verdachtsdiagnosen:	DCM	n=4	80%
	Akute Myokarditis	n=1	20%

4.3.2 Klinischer Verlauf und Therapie

Auf dem klinischen Erfassungsbogen, der zusammen mit dem Anforderungs-Schein an die einzelnen Kliniken verschickt wurde, gab es eine Auswahl an Rubriken, die den jeweiligen Krankheitsverlauf charakterisieren sollten und von den betreuenden Ärzten auszufüllen war. Zusätzlich wurden retrospektiv klinische Informationen für die einzelnen Endomyokardbiopsien eingeholt, so dass sowohl bei Erstbiopsien als auch bei Konsekutivbiopsien Daten zum klinischen Verlauf erhoben werden konnten.

Für den **Verlauf** standen folgende Angaben zur Auswahl:

- gebessert
- verschlechtert
- unverändert
- Herztransplantation (HTX)
- verstorben

Die Optionen für die Dokumentation der durchgeführten **Therapie** waren aufgeteilt in: symptomatische Therapie, immunsuppressive Therapie und Interferon-Therapie.

Die **Zeitdauer** der Erkrankung bis zur Erstbiopsie wurde in Monaten ausgerechnet. Bei den Konsekutivbiopsien wurde die Zeitspanne zwischen der Erstbiopsie und der Konsekutivbiopsie erfasst.

Die **linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF)** wurde in Prozent angegeben. Der Normalwert beträgt >65%, ab einer LVEF <45% liegt eine deutlich eingeschränkte Pumpleistung des Herzens vor.

Da zu den restlichen klinischen Parametern (s. Kapitel 2.4.1 Klinischer Erfassungsbogen) nur vereinzelt Angaben gemacht wurden, wurden diese in die Beurteilung nicht mit aufgenommen.

Klinischer Verlauf nach Erstbiopsie

• **Histologie: Kein pathologischer Befund** (n=20): Bei der Hälfte der Patienten liegen hier Angaben zum Verlauf vor:

- gebessert: n=5
- verschlechtert: n=5

Therapie: zu insgesamt 9 Patienten liegen in dieser Gruppe Angaben vor: 7 wurden symptomatisch, 2 immunsuppressiv behandelt.

Erkrankungsdauer: Bei 10 Patienten wurden Angaben gemacht. Der Zeitraum zwischen Erkrankungsbedingung und Erstbiopsie lag bei durchschnittlich 7,2 Monaten.

LVEF: Der Durchschnitt lag bei 55%, bei 7 Patienten wurden Angaben zur LVEF gemacht.

• **Histologie: Akute Myokarditis** (n=9): Bei 6 Patienten wurden Angaben zum Krankheitsverlauf gemacht:

gebessert: n=3

verstorben: n=3

Die Therapie erfolgte bei 8 der angegebenen Patienten symptomatisch. Bei einem der insgesamt 9 Patienten wurde eine immunsuppressive Therapie durchgeführt.

Erkrankungsdauer: Bei 5 Patienten wurden Angaben gemacht. Der Zeitraum zwischen Erkrankungsbedingung und Erstbiopsie lag bei durchschnittlich 2,4 Monaten.

LVEF: Es liegen keine klinischen Daten vor.

• **Histologie: Borderline Myokarditis** (n=39): Bei 19 Patienten wurde der Verlauf dokumentiert:

gebessert: n=11

verschlechtert: n=3

HTX: n=2

verstorben: n=3

Die Therapie erfolgte in 19 Fällen symptomatisch und in 10 Fällen immunsuppressiv.

Erkrankungsdauer: Bei 25 Patienten wurden Angaben gemacht. Der Zeitraum zwischen Erkrankungsbedingung und Erstbiopsie lag bei durchschnittlich 25,2 Monaten.

LVEF: Bei 7 Patienten wurde die LVEF angegeben, diese lag im Schnitt bei 33%.

• **Histologie: DCMi** (n=3): Zu 2 Patienten liegen Angaben über den Verlauf vor:

- gebessert: n=1
- verstorben: n=1

Zur Therapie wurden bei 2 Patienten Angaben gemacht, diese erfolgte symptomatisch.

Erkrankungsdauer: Bei 1 Patienten wurde die Zeitdauer zwischen Erkrankungsbeginn bis zur Erstbiopsie dokumentiert, diese betrug 12 Monate.

LVEF: Bei 1 Patienten wurde die LVEF angegeben, diese lag bei 33%.

• **Histologie: DCM** (n=81): 52 Patienten mit Verlaufsangaben:

- gebessert: n=14
- verschlechtert: n=8
- unverändert: n=14
- HTX: n=4
- verstorben: n=12

Therapieangaben wurden bei 43 Patienten aus dieser Gruppe gemacht: 42 davon wurden symptomatisch behandelt und nur ein Patient erhielt eine immunsuppressive Therapie.

Erkrankungsdauer: Bei 52 Patienten wurden Angaben gemacht, Der Zeitraum zwischen Erkrankungsbedinng und Erstbiopsie lag bei durchschnittlich 46,8 Monaten.

LVEF: Bei 25 Patienten wurde die LVEF angegeben, diese lag im Schnitt bei 33%.

• **Histologie: RCM** (n=6): Keine Angaben zum Krankheitsverlauf, bei 2 Patienten wurde eine symptomatische Therapie durchgeführt.

Erkrankungsdauer: Bei 4 Patienten wurde die Zeitdauer zwischen Erkrankungsbeginn bis zur Erstbiopsie dokumentiert, diese betrug im Schnitt 3,6 Monate.

LVEF: Bei 1 Patienten wurde die LVEF angegeben, diese lag bei 40%.

- **Histologie: HCM** (n=7): Es liegen keine Angaben zum Verlauf vor, die Therapie wurde bei insgesamt 3 Patienten angegeben, diese erhielten eine symptomatische Therapie.

Erkrankungsdauer: Bei 3 Patienten wurde die Zeitdauer zwischen Erkrankungsbeginn bis zur Entnahme der Endomyokardbiopsie dokumentiert, diese betrug im Schnitt 27,6 Monate.

LVEF: Hierzu liegen keine klinischen Angaben vor.

- **Histologie: ARVC** (n=2): Es liegen keine klinischen Angaben zum Krankheitsverlauf vor. Die 2 Patienten in dieser Gruppe wurden symptomatisch therapiert.

Erkrankungsdauer: Bei 2 Patienten wurde die Zeitdauer zwischen Erkrankungsbeginn bis zur Entnahme der Erstbiopsie dokumentiert, diese betrug im Schnitt 36 Monate.

LVEF: Bei 1 Patienten wurde die LVEF angegeben, diese lag bei 70%.

- **Histologie: Fibroelastose** (n=2): Keine Angaben zu Therapie oder Verlauf.

Erkrankungsdauer: Bei 1 Patienten wurde die Zeitdauer zwischen Erkrankungsbeginn bis zur Erstbiopsie dokumentiert, diese betrug 9,6 Monate.

LVEF: Hierzu liegen keine klinischen Angaben vor.

- **Histologie: Sonstige** (n=36): In dieser heterogenen Gruppe wurden zu 21 Patienten Angaben zum Krankheitsverlauf gemacht:

- gebessert: n=8
- verschlechtert: n=3
- HTX: n=5
- verstorben: n=5

Zu der Therapie innerhalb der Gruppe wurden folgende Angaben gemacht: 12 Kinder und Jugendliche wurden symptomatisch therapiert, 2 Patienten erhielten eine immunsuppressive Therapie.

Erkrankungsdauer: Bei 19 Patienten wurde die Zeitdauer zwischen Erkrankungsbeginn bis zur Entnahme der Myokardbiopsie dokumentiert, diese betrug im Schnitt 18 Monate.

LVEF: Bei 12 Patienten wurde die LVEF angegeben, diese lag im Schnitt bei 54%.

Klinische Befunde bei konsekutiven Biopsien:

• **Histologie: Zustand nach Myokarditis** (n=26): Angaben über den Verlauf wurden bei 21 Patienten gemacht:

- gebessert: n=6
- unverändert: n=7
- verstorben: n=8

Die Therapie erfolgte in dieser Gruppe bei 14 Kindern und Jugendlichen symptomatisch, 5 Patienten wurden immunsuppressiv behandelt.

Erkrankungsdauer: Bei 20 Patienten wurden Angaben gemacht, die Erkrankungsdauer bis zur konsekutiven Biopsie lag bei durchschnittlich 19,2 Monaten.

LVEF: Bei 8 Patienten wurde die LVEF angegeben, diese lag im Schnitt bei 43%.

● **Histologie: Chronische Myokarditis** (n=4): Bei 1 Patienten wurde der Verlauf dokumentiert. Die Therapie erfolgte symptomatisch, es kam zu einer Besserung. Die Zeitspanne zwischen Erstbiopsie und konsekutiver Biopsie betrug 6 Monate, zur LVEF wurde keine Angabe gemacht.

● **Histologie: DCM** (n=5): Bei 3 Patienten liegen Angaben zum klinischen Verlauf vor.

□ unverändert: n=3

Die Therapie erfolgte symptomatisch.

Die Zeitspanne zwischen Erstbiopsie und Entnahme der konsekutiven Biopsie lag bei durchschnittlich 11,3 Monaten.

Bei einem Patienten liegen Daten zur LVEF vor. Diese lag bei 30%.

5 Zusammenfassung der Ergebnisse

Für die vorliegende Arbeit wurden Endomyokardbiopsien von 205 Patienten im Alter zwischen 0,1 und 16 Jahren ausgewertet. Insgesamt lagen für 205 Erstbiopsien und 35 konsekutive Biopsien Untersuchungsergebnisse vor. Die Herzmuskelbiopsien wurden mit routinehistologischen, immunhistologischen und molekularpathologischen Methoden untersucht. Die Einteilung der Kardiomyopathien erfolgte anhand der WHO/ISFC-Klassifikation von 1996. Die histologische Einteilung der Myokarditiden erfolgte nach der Dallas-Klassifikation (Erstbiopsie: aktive/akute Myokarditis, Borderline Myokarditis, keine Myokarditis; konsekutive Biopsien: ongoing (chronische) Myokarditis, abheilende Myokarditis und abgeheilte Myokarditis). Der neue Begriff einer Borderline und/oder chronischen Myokarditis mit Fibrose (DCMi) wurde für Erstbiopsien und konsekutive Biopsien (96) entsprechend in die histomorphologische Beurteilung mit aufgenommen. Mit Hilfe immunhistologischer Untersuchungen konnte das entzündliche Infiltrat genauer charakterisiert werden. Die molekularen Techniken (PCR, ISH) dienten dem Nachweis viraler und anderer mikrobieller Genome in der Herzmuskelbiopsie.

Die Ergebnisse für die Erstbiopsien sind in Tabelle VI und für die konsekutiven Biopsien in Tabelle VII zusammengefasst.

Erstbiopsie:

Diagnosen (Histologie)	Anzahl Patienten	PCR positiv	nachgewiesene Genome n = Patienten	Myokardiale Entzündung
kein pathologischer Befund	n=20	n=2	PVB 19 n=1 Borrelien n=1	keine keine
Akute Myokarditis	n=9	n=6	PVB 19 n=3 Enteroviren n=2 HCMV n=1	akut akut akut
Borderline Myokarditis	n=39	n=16	PVB 19 n=9 Enteroviren n=4 Adenoviren n=1 EBV n=1 HHV8 n=1	Borderline Borderline Borderline Borderline Borderline
DCMi	n=3	n=0	n=0	Borderline
DCM	n=81	n=18	PVB 19 n=11 EBV n=4	keine keine

			HHV6 n=2 Chlamydien n=1	keine keine
RCM	n = 7	n=1	EBV n=1	keine
HCM	n = 6	n=1	Enteroviren n=1	keine
ARVD	n = 2	n=1	HCV n=1	keine
Fibroelastose	n = 2	n=0	n=0	keine
Sonstige	n = 36	n=7	Enteroviren n=2 PVB 19 n=2 EBV n=2 HCMV n=1	keine keine keine keine

Tabelle VI: Histopathologische Diagnosen, Virushäufigkeit, Patientenverteilung sowie Klassifizierung der myokardialen Entzündung bei Erstbiopsien

Konsekutivbiopsien:

Diagnosen	Anzahl Patienten	PCR positiv	nachgewiesene Genome n = Patienten	Myokardiale Entzündung
Z.n. Myokarditis	n=26	n=5	PVB19 n=3 EBV n=2	keine keine
Chronische Myok.	n=4	n=1	PVB19 n=1	Borderline
DCM	n=5	n=2	PVB19 n=2	keine

Tabelle VII: Histopathologische Diagnosen, Virushäufigkeit, Patientenverteilung sowie Klassifizierung der myokardialen Entzündung bei Konsekutivbiopsien

Zusammenfassend ist zu bemerken, dass in guter Übereinstimmung mit der klinischen Verdachtsdiagnose die dilatative Kardiomyopathie bei n=81 Patienten (39 %) das häufigste Krankheitsbild war, gefolgt von den entzündlichen Herzmuskelerkrankungen, die bei n=51 Patienten (24,8 %) diagnostiziert wurden. Auffällig für die beiden Krankheitsbilder ist der späte Zeitpunkt der Indikationsstellung für eine Endomyokardbiopsie: Bei der dilatativen Kardiomyopathie wurde durchschnittlich erst nach 46,8 Monaten, bei der akuten Myokarditis nach 2,4 Monaten, bei der Borderline-Myokarditis und DCMi zwischen 12 bis 24 Monaten jeweils nach kardialem Erkrankungsbeginn eine Herzmuskelbiopsie zur morphologischen Abklärung durchgeführt.

Hinsichtlich der molekularen Diagnostik kardiotoxischer Erreger ergaben sich folgende Befunde: Bei den Erstbiopsien wurden Genome kardiotoxischer Erreger bei insgesamt 52 von 205 Patienten nachgewiesen, dies entspricht einem Anteil von 25,4%. In den konsekutiven Biopsien lag der Anteil virusgenompositiver Patienten bei 22,8% (8 von 35 Patienten).

Insgesamt zeigte sich bei der akuten Myokarditis der höchste Anteil an virusgenompositiven Herzmuskelbiopsien mit 66,7%, gefolgt von der Borderline Myokarditis mit 41% viruspositiven Endomyokardbiopsien. Die chronische Myokarditis wies einen Anteil von 25% viruspositiver EMB auf bei einer Gesamtpatientenzahl von 4 Patienten.

Die DCM zeigte in den Erstbiopsien einen Anteil virusgenompositiven Biopsien von 22%, in den konsekutiven Biopsien konnten bei 2 von den insgesamt 5 Patienten in der PCR Virusgenome nachgewiesen werden, alle ohne Begleitentzündung.

PVB19 war das am häufigsten nachgewiesene Virusgenom. Insgesamt wurde eine PVB19-Infektion bei 32 von 60 Patienten (53,4%) nachgewiesen. Zweithäufigster Erreger war EBV, nachgewiesen bei insgesamt 10 Patienten (16,6%), gefolgt von den Enteroviren, nachgewiesen bei 9 Patienten (15%), sowie sonstige Erreger bei 9 Patienten (15%).

Mit Hilfe der in situ-Hybridisierung konnten bei einer akuten PVB19-Myokarditis die Endothelien der koronaren Mikrozirkulation und bei einer akuten Coxsackie B3-Myokarditis die Herzmuskelzellen als Zielzellen der jeweiligen Infektion identifiziert werden.

Bei viruspositiven Endomyokardbiopsien wurde die Konstellation Myozytennekrose mit akuter Begleitentzündung als akute Virusmyokarditis interpretiert, eine viruspositive Borderline Myokarditis, DCMi oder chronische Myokarditis weist auf eine chronisch persistierende Virusinfektion hin. Der fehlende Nachweis einer Entzündungsreaktion in Virus-positiven Herzmuskelbiopsien wird als latente Virusinfektion interpretiert. Der sporadische Nachweis von viralen Genomen bei der DCM, RCM, HCM und ARVC hat ätiologisch keine Bedeutung und wird pathogenetisch als latente, klinisch nicht relevante Infektion ohne Begleitentzündung gewertet.

Hinsichtlich der Prognose der DCM und der Myokarditis bleibt unter Berücksichtigung der konsekutiven Biopsien unabhängig von den molekularpathologischen Befunden und unterschiedlichen Therapieansätzen folgendes festzuhalten: Die schlechteste Prognose wiesen die Patienten (n=52) mit einer DCM auf, bei denen es bei 73 % der Fälle zu einer zunehmenden Herzinsuffizienz kam, die in 4 Fällen zu einer Herztransplantation oder in 12 Fällen zum Tode führte. Bei 27 Patienten mit einer

entzündlichen Kardiomyopathie kam es in 42 bis 45 % der Fälle ebenfalls zu einer Verschlechterung der kardialen Symptomatik, die in 2 Fällen zur Herztransplantation bzw. in 7 Fällen zum Tode führte.

6 Diskussion

Das Spektrum der Kardiomyopathien im Kindesalter weist Unterschiede auf im Vergleich zu dem der Erwachsenen. Von den unterschiedlichen ätiologischen Faktoren, die für die Entstehung der Kardiomyopathien verantwortlich sind, scheinen die genetischen Defekte eine weitaus größere Rolle für das Vorkommen von Kardiomyopathien im Kindesalter zu spielen (50), während umweltbedingte Faktoren eher für die Erkrankungen der Erwachsenen wichtig sind (72).

Obwohl Kardiomyopathien und entzündliche Herzmuskelerkrankungen eine wichtige Rolle unter den Erkrankungen im Kindesalter spielen und eine häufige Indikation zur Herztransplantation darstellen, gibt es nur spärliche Daten bezüglich Prävalenz und Ätiologie innerhalb wohl definierter pädiatrischer Populationen (10 u. 11).

Die Studie von Arola et al. gelangt zu einer Häufigkeit von 4,7/100.000/Jahr für alle Kardiomyopathien (10). Ferencz und Neill (50) liefern eine Prävalenz von 10/100.000/Jahr für alle Kardiomyopathien im Kindesalter. Andererseits gab es zahlreiche Studien zu allen Altersgruppen, die überhaupt keine pädiatrischen Fälle enthalten (12, 41, 42). Der Grund für das Fehlen von Kindern mit Kardiomyopathien in den erwähnten Studien ist unbekannt, liegt aber möglicherweise an den kleinen Populationen, die untersucht wurden oder an geographischen Unterschieden bezüglich des Vorkommens von Kardiomyopathien (10 u. 11).

Die Resultate der Studie von Arola et al. (10) aus dem Jahre 1997 sowie die vorhergehenden Studien (41) belegen eine Zunahme der Inzidenz für Kardiomyopathien.

In einer retrospektiven Studie wurden in Finnland (10) Patienten im Alter von 0,1 bis 20 Jahren untersucht. Unter den 808 bearbeiteten Fällen wurden 118 Kinder und Jugendliche mit der gesicherten Diagnose idiopathische Kardiomyopathie identifiziert. Die durchschnittliche Anzahl neuer Fälle pro Jahr betrug 0,65 auf 100.000 innerhalb der Population (Konfidenzintervall 95% (CI) 0,53-0,79). Hätte man die 15 post mortem diagnostizierten Fälle während der 12jährigen Studiendauer hinzugezogen, wäre die Anzahl neuer Fälle pro Jahr auf 0,74 auf 100.000 gestiegen. Innerhalb der Studienzeit wurden 56 neue Fälle von DCM und 40 neue Fälle von HCM diagnostiziert, was einen Durchschnittswert von 0,34/100.000/Jahr (95% CI 0,26-0,44) und 0,24/100.000/Jahr

(95% CI 0,17-0,33) für neue Fälle von DCM und HCM darstellt. Ende 1991 betrug die Prävalenz für die dilatative Kardiomyopathie 2,6/100.000 (95% CI 2,0-4,0) und für die HCM 2,9/100.000 (95% CI 2,0-4,0). Die Anzahl der neuen Fälle von DCM hat während der Studiendauer zugenommen, während das jährliche Vorkommen von HCM annähernd konstant blieb (10).

Diese Ergebnisse sind teilweise dadurch zu erklären, dass immer mehr echokardiographische Befunde zur Diagnosestellung hinzugezogen werden und die Kliniker ihrerseits eine zunehmende Sensibilität bezüglich dieser Diagnosen entwickeln.

Bezüglich der Häufigkeit einzelner Herzmuskelerkrankungen fällt in der hier vorgelegten Studie auf, dass die primären Kardiomyopathien (DCM, RCM, HCM, ARVD) mit insgesamt 96 Patienten (46,8%) dominieren, im Vergleich zu 51 Patienten (24,9%) mit diagnostizierten entzündlichen Herzmuskelerkrankungen. Bei der Literaturdurchsicht fällt auf, dass es kaum Arbeiten gibt, die eine vergleichende Aussage über die Häufigkeit von primären Kardiomyopathien im Kindesalter und der Inzidenz von entzündlichen Herzmuskelerkrankungen in ein und demselben Patientenkollektiv beschreibt. Im Folgenden wird auf einzelne Krankheitsbilder eingegangen.

Dilatative Kardiomyopathie (DCM)

Im vorliegenden Patientenkollektiv fiel der hohe Anteil der DCM in der Gruppe der primären Kardiomyopathien auf. Sie wurde bei 81 Patienten in der Erstbiopsie diagnostiziert. Dies entspricht einem Anteil von 39,5% der insgesamt 205 Patienten.

Nach der neuen Einteilung der Kardiomyopathien von 2006 (107) ist die dilatative Kardiomyopathie eine primäre Kardiomyopathie und gehört zu der Gruppe der gemischten (erworbene und genetische) Kardiomyopathien (s. Abbildung 1).

Am häufigsten tritt sie als primäre oder „idiopathische“ Form auf. Familiäre, genetisch bedingte Formen werden in 20-35 % beobachtet (Übersicht: Maron et al, 2006 (107)). Sekundäre Ursachen sind Myokardperfusionsstörungen, Medikamente, Toxine, Infektionen oder Arrhythmien (122), seltenere Ursachen sind infiltrative Erkrankungen,

Hypertonie, HIV, Bindegewebserkrankungen und Cytostatica (49). Detaillierte Untersuchungen über die Ätiologie der DCM im Kindesalter liegen nicht vor (142).

Über die Prävalenz der DCM im Kindesalter liegen unterschiedliche Informationen vor. Codd und Mitarbeiter (41) fanden bei einer sehr genauen Erfassung der Einwohner von Olmsted County, einer ländlichen Region von Minnesota, eine Inzidenz der DCM von 69 Erkrankungen auf 100.000 Personen im Jahr und eine Prävalenz von 36,5 Erkrankungen auf 100.000 Einwohner. Dabei beobachteten sie innerhalb eines Zeitraumes von 10 Jahren kein Kind unter 15 Jahren mit einer DCM.

In der Bundesrepublik Deutschland wurden für das Jahr 1994 von 47 befragten kinder-kardiologischen Zentren 50 neu erkrankte Kinder mit dem klinischen Bild einer DCM gemeldet, wie Schmalz und Mitarbeiter (142) berichten. Im Patientenkollektiv von Schmalz und Mitarbeiter (142) liegt der Erkrankungsbeginn in 75% der Fälle in den ersten Lebensjahren, wobei die Patienten mit uncharakteristischen Symptomen der Herzinsuffizienz auffallen: Abgeschlagenheit, Ernährungs- und Gedeihstörung, Tachydyspnoe, hartnäckig anhaltender Husten, periphere Ausschöpfungszyanose und Ödemneigung. Auskultatorisch werden häufig das systolische Geräusch der Mitralinsuffizienz sowie feine Rasselgeräusche über den basalen Lungenabschnitten beobachtet. Bei EKG-Befunden findet sich am häufigsten eine linksventrikuläre Hypertrophie mit Störungen der Repolarisationsphase (142), sowie eine Sinustachykardie, tiefe Q-Wellen in I und AVL und Veränderungen der ST-Strecke (152). Echokardiographisch ist der linke Ventrikel dilatiert, die Verkürzungsfraktion herabgesetzt, die systolischen Zeitintervalle und die isovolumetrische Kontraktionszeit sind verlängert (93,142). Das abnorme Dopplerflussprofil über der AV-Klappe erlaubt die Messung der erschwerten diastolischen Füllung, im Farbdoppler gelingt der Nachweis der sekundären Mitral- und Trikuspidalklappeninsuffizienz. Im Thoraxröntgenbild findet man eine Kardiomegalie mit Verdrängung des linken Hauptbronchus, Lungenvenenstauung mit Lungenödem und eventuell Pleuraerguss. Die Herzkatheterisierung ist bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie mit einem größeren Risiko verbunden und wird deshalb nur in bestimmten Fällen jeweils zur Bestimmung der Koronar anatomie und für eventuelle Endomyokardbiopsien bei unklarer Ätiologie empfohlen (152).

Die Leitsymptome orientieren sich meist am Stadium der Herzinsuffizienz (Einteilung nach NYHA-Stadium s.Tabelle VIII). Dyspnoe und präkordialer Schmerz finden sich

infolge der erhöhten Wandspannung und relativer koronarer Minderperfusion der kleinen Gefäße als Angina pectoris und bei Perikardbeteiligung als Dyskardie im Rahmen der inflammatorischen Kardiomyopathie. Rhythmusstörungen treten mit zunehmender Einschränkung der Ejektionsfraktion gehäuft auf und gehen mit der Gefahr des plötzlichen Herztodes einher (99).

Einteilung nach NYHA-Stadien:

<u>NYHA-Stadium</u>	<u>Ejektionsfraktion</u>	<u>Charakteristikum</u>
I	EF > 55%	Segmentale Kontraktionsstörungen
II	EF 40-54%	Globale und segmentale Kontraktionsstörung möglich
III	EF 25-50%	Globale schwere Kontraktionsstörung
IV	EF < 25%	Globale schwere Funktionsstörung (Prä)Transplantationsstadium

Tabelle VIII: Hämodynamische Stadieneinteilung der DCM

Unter den verschiedenen Formen der Kardiomyopathie stellt in der Studie von Arola et al. (10) die DCM vergleichbar mit der vorliegenden Studie die häufigste Form dar mit 52% der insgesamt 118 untersuchten Kinder und Jugendlichen. Unter den Patienten mit DCM betrug das mediane Alter bei Diagnosestellung bei dieser Studie 13 Monate, es gab keinen Unterschied bezüglich der Verteilung der Geschlechter. Im vorliegenden Patientenkollektiv zeigt die DCM einen Altersdurchschnitt von 1,2 Jahren (entspricht 14,4 Monaten), die Geschlechterverteilung ist mit 51% männliche Patienten und 49% weibliche Patienten auch nahezu gleich. Die Studie von Venugopalan et al. (163) untersucht 18 Kinder von der Arabischen Halbinsel mit idiopathischer Kardiomyopathie. Hier fiel eine deutliche Dominanz des weiblichen Geschlechts auf (M:W = 1:3,5) und 15 Patienten (83%) hatten das zweite Lebensjahr noch nicht vollendet. Das Ergebnis

dieser Studie unterschied sich von den Ergebnissen der vorliegenden und anderer Studien (4,51,92) in Bezug auf die Geschlechterverteilung und auf das Lebensalter.

Die Prognose der DCM ist ernst, wobei der Vergleich der einzelnen Studien ausgesprochen schwierig ist. Patientenkollektive, Diagnose- und Zuweisungsmodus sind ausgesprochen unterschiedlich. In einem tertiären Zentrum wird immer die Anzahl schwerer Erkrankungen größer sein, während bevölkerungsbezogene Studien, die auch leichte, ambulant zu behandelnde Erkrankungen miteinfassen, deutlich bessere Überlebensquoten angeben. Ähnlich umstritten sind auch die prognostischen Faktoren, die ein schlechtes Überleben wahrscheinlich machen sollen: persistierendes Herzversagen, Kardiomegalie, eine erniedrigte „ejection fraction“ oder „shortening fraction“ (142).

Die prognostischen Faktoren der DCM bei Kindern sind nicht klar definiert (40). Die Einjahres-Sterblichkeitsrate von 29%-37% und die Fünfjahres-Sterblichkeitsrate von 66% sind höher als die von Erwachsenen (37,51,139,157). Scott et al. (151) dokumentierten eine bessere Prognose für junge Kinder. Kinder unterhalb 2 Jahren hatten eine Rate von 84% für die 12monatige Überlebenszeit, während Kinder und Jugendliche zwischen 2 und 16 Jahren lediglich eine Rate von 49% aufwiesen. In der Studie von Griffin et al. (56) starben alle Kinder zwischen 5 und 16 Jahren in dem nachfolgenden Beobachtungszeitraum von 2 Jahren. Greenwood et al. (54) fand eine höhere Mortalität bei Kindern mit pulmonaler Obstruktion. In der Studie von Chen et al. (37), der die klinischen Daten von 23 Kindern analysierte, hatten lediglich die familiäre Kardiomyopathie und eine erniedrigte Kontraktionsfraktion in der Echokardiographie eine schlechtere Prognose.

In der Studie von Ciszewski et al. (40) ereignete sich der Tod der Patienten in den ersten 2 Jahren der Nachuntersuchungszeit. Friedmann et al. (51) fand, dass 90% der Patienten in den ersten 2,5 Jahren der Erkrankung starben und Talliercio et al. (157) dokumentierte 80% der Todesfälle während der ersten zwei Jahren des Beobachtungszeitraums. In Anlehnung an diese Beobachtungen sind die ersten 2 Jahre der Erkrankung die gefährlichsten für den Patienten und anschließend verbessert sich die Prognose (40). Die späte Spontanheilung bleibt weiterhin ein unerklärliches Phänomen der DCM bei Kindern (40). Sie wurde bei 4 Kindern aus der Studie von Cizewski et al. (40) beobachtet (2 davon mit gesicherter Myokarditis) zwischen dem 3. und 5. Jahr ihrer Erkrankung.

Hypertrophische Kardiomyopathie (HCM)

Die HCM ist insgesamt seltener als die DCM. In der Familienanamnese findet man häufig Hinweise auf ähnliche Herzerkrankungen oder Symptome bei nahen Verwandten, so dass es sich bei der Erkrankung überwiegend um ein erbliches Leiden handelt. Etwa 50% der Fälle zeigen eine solche familiäre Häufung und sind genetisch determiniert. Es wird ein autosomal dominanter Erbgang mit unterschiedlicher Penetranz angenommen (99).

Unter hämodynamischen Gesichtspunkten wird zwischen einer Form mit Obstruktion (HOOCM = hypertrophische obstruktive Kardiomyopathie, IHSS im Kindesalter) und einer Form ohne Ausflussbahnobstruktion (HCM) unterschieden. Eine invasive Diagnostik ist nicht mehr obligat zur Diagnosestellung. Die Myokardbiopsie kommt vorwiegend bei nichtobstruktiven Formen zum Ausschluss sekundärer Herzmuskelerkrankungen, die dasselbe angiographische Bild zeigen (Amyloidose, Speichererkrankungen, zum Beispiel Glykogenosen) in Betracht (99).

Im vorliegenden Patientenkollektiv zeigte sich bei 6 Patienten eine HCM. Dies entspricht einem Anteil von 2,9%. Damit zeigt die HCM auch hier eine deutlich geringere Ausprägung, was insgesamt den Daten aus der Literatur entspricht. Das weibliche Geschlecht dominiert mit 4 Patienten gegenüber 2 männlichen Patienten. Der Altersdurchschnitt liegt bei 11,4 Jahren.

Die Studie von Arola et al. (10) weist während der zwölfjährigen Studiendauer 40 neue Fälle von HCM auf. In dieser Gruppe war das männliche Geschlecht vorherrschend mit 75% (33 männliche und 11 weibliche Patienten). Das Alter der Patienten bei Diagnosestellung variierte zwischen 1 Tag und 20 Jahren (Median 13 Jahre). Die HCM kam bei älteren Patienten öfter vor: 26 (59%) Patienten hatten das 10. Lebensjahr bereits vollendet und 17 (39%) waren bereits über 15 Jahre alt zum Zeitpunkt der Vorstellung. Die jährliche Anzahl neuer Fälle zeigte keine Zunahme. Im Unterschied zu den Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie waren die meisten Patienten mit HCM bei Diagnosestellung asymptomatisch (n = 27; 61%). Als einzige Auffälligkeit wiesen diese Patienten ein systolisches Geräusch auf. Bei 11 Patienten bestanden die Hauptbeschwerden in Dyspnoe oder rascher Ermüdbarkeit (10).

Restriktive Kardiomyopathie (RCM)

Insgesamt wurde bei 7 Patienten in der vorliegenden Studie eine RCM diagnostiziert, davon waren 5 Patienten weiblich und 2 männlich.

Die RCM ist in Mitteleuropa extrem selten und zeigt sich dann in der Regel als Endokarditis fibroplastica Löffler. Sie ist häufiger in Afrika und kommt dort als Endomyokardfibrose vor (tropische Form) (99).

Hämodynamisch findet sich bei normal großem linkem Ventrikel eine abrupte Hemmung der diastolischen Dehnbarkeit. Intraventrikuläre Thromben sind häufig. Sekundäre Kardiomyopathien wie Amyloidose und andere infiltrative Myokarderkrankungen können unter dem Bild einer RCM verlaufen und sollten durch Endomyokardbiopsie ausgeschlossen oder nachgewiesen werden (99).

Die Geschlechterverteilung in der vorliegenden Arbeit zeigt wie bei der HCM einen höheren weiblichen Anteil.

In der Studie von Arola et al. aus dem Jahre 1997 (10) hatten sechs männliche von insgesamt 118 untersuchten Patienten eine RCM. Das Alter bei Diagnosestellung variierte von 2 Jahren bis 14 Jahren (Median 7,2 Jahre). Die Verzögerung der Diagnose zwischen Auftreten erster Beschwerden und Diagnosestellung betrug 2 Wochen bis zu 6 Jahren.

Arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie (ARVC)

Die Diagnose einer ARVC wurde im vorliegenden Patientenkollektiv bei 2 von 205 Patienten gestellt. Die Patienten waren 10 und 12 Jahre alt, ein männlicher und ein weiblicher Patient. In der Studie von Arola et al. (10) wurde diese Diagnose bei 3 der insgesamt 118 untersuchten Patienten vorgefunden. Die Patienten waren 9, 13 und 15 Jahre alt bei Diagnosestellung. Eine Diagnose wurde erst post mortem gestellt. Alle Patienten wiesen wiederholte Synkopen bei körperlicher Anstrengung auf. Bei zwei von ihnen waren Herzrhythmusstörungen bekannt. Auch hier trat eine Verzögerung der Diagnosestellung auf, die bis zu über 4 Jahren betrug, vergleichbar mit den Patienten

mit ARVC in dieser Studie, bei denen die Diagnose erst nach durchschnittlich 36 Monaten erfolgte.

Die ARVC ist eine seltene Form der vererbaren Herzmuskelerkrankungen (ca. 1:5000) mit relativ neuer Entdeckung (ca. vor 20 Jahren) (107). Die ARVC betrifft vorwiegend den rechten Ventrikel und ist durch einen fortschreitendem Verlust von Myocyten charakterisiert, mit konsekutivem Ersatz von myokardialem Gewebe durch Fett oder Bindegewebe und daraus resultierenden regionalen (segmentalen) oder globalen Anomalien (99,107). Trotz häufiger Koinzidenz mit einer Myokarditis (Enteroviren und Adenoviren wurden in einigen Fällen nachgewiesen), wird die ARVC nicht zu den primär inflammatorischen Kardiomyopathien gezählt.

Die ARVC hat ein breites klinisches Spektrum und fällt meistens durch ventrikuläre Tachyarrhythmien (z.B. monomorphe ventrikuläre Tachykardie) auf. Die Erkrankung stellt eine anerkannte Ursache des plötzlichen Herztodes bei jungen Patienten dar, in Italien ist sie sogar die häufigste Ursache für den plötzlichen Herztod bei Hochleistungsathleten (107).

Die Ätiologie ist unklar. Hereditäre Faktoren sind bei einem Teil der Patienten anzunehmen (99), in den meisten Fällen zeigt die ARVC einen autosomal dominanten Erbgang mit inkompletter Penetrans (107). Für andere, auch für sporadische Fälle wird eine intrauterine Myokarditis des Fetus mit atypischer fettig-fibröser Abheilung, eventuell begünstigt durch eine familiäre Prädisposition diskutiert (99).

Fibroelastose

Im vorliegenden Patientenkollektiv wurde bei 2 weiblichen Patienten die Diagnose einer Fibroelastose gestellt. Die Patienten waren 0,4 (5 Monate) und 1,5 Jahre (18 Monate) alt.

Die Zuordnung der Fibroelastose zu den einzelnen Diagnose-Gruppen gemäß der Richtlinien der WHO/ISFC (135) ist noch unklar (10). Es gibt keine Übereinkunft darüber, ob die Fibroelastose als primäre Erkrankung anzusehen ist, oder vielmehr als reaktive Form einer bereits bestehenden Herzerkrankung (63,65,96,125). Neuere Studien behandeln die Fibroelastose als Ausdruck der dilatativen Kardiomyopathie

aufgrund der ähnlichen klinischen und echokardiographischen Befunden (112). Die endokardiale Fibroelastose wurde definiert als diffuse Hypertrophie des linksventrikulären Endokards als Folge der Proliferation von kollagenem und elastischem Bindegewebe. Dies führt zu einer verminderten Compliance und einer eingeschränkten diastolischen Funktion. Es wurden sowohl primäre als auch sekundäre Formen beschrieben (65).

Das Patientenkollektiv mit Fibroelastose in der Studie von Arola et al. (10) zeigte ähnliche Ergebnisse: Alle Patienten hatten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung das zweite Lebensjahr noch nicht vollendet und 8 der insgesamt 12 Patienten (67%) waren weiblich (10).

Myokarditis

Als weitere wichtige und häufige Form einer Kardiomyopathie ist die Myokarditis (entzündliche Kardiomyopathie) zu nennen, die nach der WHO-Nomenklatur von 1996 (99) zu den spezifischen und nach der neuen von Maron 2006 (107) vorgeschlagenen Klassifikation zu den primär erworbenen Kardiomyopathien gehört. Bei Durchsicht der Literatur gibt es erstaunlicherweise keine Daten, die die relative Gesamthäufigkeit der Myokarditis im gesamten Spektrum der primären und sekundären bzw. spezifischen Kardiomyopathien im Kindesalter dokumentieren. In der vorliegenden Arbeit konnte erstmals gezeigt werden, dass in dem untersuchten Patientengut nach der dilatativen Kardiomyopathie (39,5 %) die Myokarditis in den verschiedenen Verlaufsformen mit 26,8 % die zweithäufigste Ursache einer Kardiomyopathie im Kindesalter repräsentiert.

Die Klinik der Myokarditis ist durch die Symptomatik der beginnenden Herzinsuffizienz gekennzeichnet und kann in die unterschiedlichsten Verlaufsformen einmünden: An einem Ende der Bandbreite steht der plötzliche Kindstod nahezu ohne vorausgegangene Symptomatik, bei dem in forensischen Untersuchungen nicht selten eine akute Myokarditis als Ursache gefunden wird (46,133). Andere Patienten entwickelten ein progressives Herzversagen und ein dadurch verursachtes Multiorganversagen, und konnten nur mit extrakorporaler Membranoxigenierung oder verschiedenen mechanischen Unterstützungssystemen oder Herztransplantationen

(36,57,121,151,154) am Leben gehalten werden (36,154). Am anderen Ende finden sich asymptomatische Kinder ausschließlich mit Repolarisationsstörungen im EKG, bei denen in der Studie von Nakagama et al (124) bei drei von zwölf Patienten histologisch eine Myokarditis nachgewiesen wurde (124). Neben mehreren Einzelfallberichten waren anhaltende und nicht-anhaltende ventrikuläre Tachykardien ohne jegliche Funktionsstörung des Herzens in einer Serie von 69 Kindern in 14% Ausdruck einer Myokarditis (13). Daneben werden Vorhofflattern, totaler AV-Block oder das EKG-Bild eines Myokardinfarktes als Leitsymptom einer Myokarditis geschildert (62,73,153).

Die klinische Diagnostik der Myokarditis umfasst das Elektrokardiogramm (EKG), das Echokardiogramm und die Endomyokardbiopsie. Zusätzlich bieten herzspezifische Enzymdiagnostik, immunologische Untersuchungen und neuere bildgebende Verfahren wie die Magnetresonanztomographie (MRT) weitere Möglichkeiten in der Diagnostik der Myokarditis (97). Im EKG fallen Niedervoltage, Rhythmus- und Repolarisationsstörungen auf. Das Echokardiogramm dokumentiert eine Dilatation und Funktionseinschränkung des linken Ventrikels (144) und wird für die Früh-Diagnostik bei Patienten mit Verdacht auf Myokarditis empfohlen (97). Allerdings sind die Informationen über die Anatomie und Funktion des Herzmuskels, die man mit Hilfe der Echokardiographie bekommt (z.B. Ventrikelgröße, Ejektionsfraktion, Dyskinesien) ungenügend, um die Myokarditis von anderen Formen der Kardiomyopathien zu unterscheiden. Die Veränderungen in der Textur des Myokardgewebes scheinen eine höhere Aussagekraft zu haben: Transmission und Reflexion des Ultraschalls hängen mit der Dichte des Gewebes zusammen, sowie dessen Elastizität und akustischer Impedanz. Veränderungen in einer oder mehreren dieser Eigenschaften führen zu unterschiedlicher Bildgebung. Dagegen bietet die Kontrast-MRT vielversprechende Ergebnisse in der Diagnostik der myokardialen Entzündung und Myozyten Schädigung. Durch T1 und T2 gewichtete Bildern ist es mit Hilfe der MRT möglich, genaueste anatomische und morphologische Aussagen über das Myokardgewebe zu treffen (97). Eine herzspezifische Enzymdiagnostik (Kreatin-Kinase [CK bzw. CK-MB], Troponin I und T) wird routinemäßig bei klinischem Verdacht auf Myokarditis durchgeführt. Die Kreatin-Kinase CK oder ihre Iso-Form CK-MB haben eine niedrige prädiktive Aussagekraft und sind wenig hilfreich als Screening-Methode. Unter den Laboruntersuchungen spiegelt die Höhe des Troponin-T mit einer in Studien errechneten Sensitivität von 53% und einer Spezifität von 94% (97) sehr gut das

Ausmaß der Myozytenschädigung wider (89). Troponin I dagegen zeigt eine in Studien beobachtete niedrigere Sensitivität von 34% und eine hohe Spezifität von 89% (97).

Ein Ausweg aus diesem klinischen Dilemma bietet die Durchführung einer Endomyokardbiopsie, die es erlaubt aufgrund von histologischen Routinefärbungen die verschiedenen Kardiomyopathieformen morphologisch zu charakterisieren. Die zusätzliche Anwendung der Immunhistologie führt – speziell bei der Myokarditis – zu einer besseren Beurteilung des entzündlichen Exsudates im Herzmuskel. Die in den letzten Jahren eingeführte molekularpathologische Diagnostik erlaubt mit hoher Sensivität und Spezifität den Nachweis eines kardiotropen Erregers aus dem Biopsiematerial. Somit repräsentiert die Endomyokardbiopsie heute den diagnostischen Goldstandard zur ätiopathogenetischen Abklärung einer Myokarditis und ihrer Differentialdiagnosen, insbesondere der „idiopathischen“ DCM (97).

In der klinischen Routine wird die Endomyokardbiopsie nicht bei allen Patienten mit einem dilatierten linken Ventrikel und eingeschränkter linksventrikulärer Funktion durchgeführt aufgrund folgender Gegebenheiten: 1.) Viele Fälle neigen zur Spontanheilung (112,157), 2.) die bekannten Risiken einer Biopsie bei Kindern, z. B. Perforation, 3.) mögliche „sampling errors“, die mit der Biopsie verbunden sind, (39) und 4.) die Tatsache, dass es keine spezifische Therapie gibt (111). Entzündliche Veränderungen hat man in Biopsien bei 67% der Patienten mit der klinischen Verdachtsdiagnose einer DCM gefunden, abhängig von der zeitlichen Spanne zwischen dem Auftreten erster Symptome und dem Zeitpunkt der Biopsie (45). In der Studie von Arola et al. (10) hatten 40% der Patienten mit DCM Symptome einer gastrointestinalen oder respiratorischen Infektion in der Vorgeschichte oder bei Diagnosestellung. Auffallend in dem hier vorgelegten Untersuchungsgut war die Tatsache, dass bei klinischem Verdacht auf eine akute Myokarditis eine Endomyokardbiopsie durchschnittlich erst 2,4 Monaten nach kardialem Erkrankungsbeginn durchgeführt wurde.

Bei dem breiten Symptombild der Myokarditis bleibt die Prävalenz dieser Erkrankung weiterhin unbekannt (144). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit belegen eine akute Myokarditis bei 4,3% der Patienten und eine Borderline Myokarditis in 19% aller untersuchten Erstbiopsien, eine chronische Myokarditis wurde bei 4 von 35 (11,4%) konsekutiven Biopsien diagnostiziert, ein Zustand nach Myokarditis lag bei 26 (74,3%) Patienten in den konsekutiven Biopsien vor.

In der Universitätskinderklinik Gießen machten in den Jahren 1971 bis 1986 alle entzündlichen Erkrankungen zusammen 0,68% der stationären Aufnahmen aus (134). Unter den im Rahmen der multizentrischen Therapiestudie der chronischen Myokarditis im Kindesalter (141) an neu beobachteten Kindern mit dem klinischen Bild der dilatativen Kardiomyopathie durchgeführten Biopsien fand sich in 30% eine Myokarditis (27), während bei Erwachsenen mit dilatativer Kardiomyopathie sich bioptisch in 4,3% bis 10% eine Myokarditis findet (7,111). Nach den von Schmalz und Mitarbeiter (144) 1995 erhobenen Registermeldungen für Kinder mit neu aufgetretener dilatativer Kardiomyopathie von 56 Kindern im Jahr 1994 muss derzeit in der Bundesrepublik mit 15 bis 20 Kindern mit Myokarditis jährlich gerechnet werden (66), die aufgrund einer schwersten Herzinsuffizienzsymptomatik in einer universitären Einrichtung vorgestellt werden. Definitionsgemäß sind dabei Kinder mit fokaler Myokarditis ohne linksventrikuläre Dilatation sowie der plötzliche Kindstod auf dem Boden einer Myokarditis nicht miterfasst.

Die Studie von Nugent et al. (127) zeigt, dass die „lymphozytäre“ Myokarditis ein wichtiger Auslöser der akuten DCM ist (108,112,165). In der Studie von Ciszewski et al. (40) sowie in der von Latherburry et al. (87) wurde in 25% der Fälle eine Myokarditis diagnostiziert. Der bessere klinische Verlauf der Patienten mit der histologischen Diagnose einer akuten Myokarditis und das Fehlen von Komplikationen im Anschluss an die Endomyokardbiopsie veranlasste Ciszewski et al. (40) sowie weitere Autoren (137,139,169) dazu, diese diagnostische Methode als hilfreich und sicher anzusehen. Zahlreiche Studien haben belegt, dass pädiatrische Patienten mit lymphozytärer Myokarditis bessere Überlebenschancen und bessere ventrikuläre Funktionswerte in Langzeit-Studien haben als solche mit idiopathischer, metabolischer oder genetisch determinierter Kardiomyopathie (112,165). Zukünftige Studien bezüglich der spezifischen Therapie für pädiatrische Patienten sollten die frühe Endomyokardbiopsie beinhalten (127). Zu ähnlichen Schlussfolgerungen gelangen auch Ciszewski et al. (40): Bei ungefähr 25% der Patienten mit DCM lässt sich mit Hilfe der Endomyokardbiopsie eine aktive Myokarditis feststellen. Da sich darunter die Patienten mit größtem Potential für Verbesserung und Heilung befinden, ist die Myokardbiopsie als sichere und hilfreiche diagnostische Methode anzusehen im Umgang mit Patienten mit akut auftretender DCM (40).

Die Studie von Kleinert et al. (76) aus dem Jahre 1997 liefert ähnliche Ergebnisse und Schlussfolgerungen. Die Ergebnisse der Studie beweisen, dass die lymphozytäre Myokarditis ein häufiger Befund bei Kindern mit akut auftretender DCM ist bei früher Entnahme von Endomyokardbiopsien. Diese Patienten können klinisch von solchen mit dilatativer Kardiomyopathie ohne lymphozytäre Myokarditis nicht unterschieden werden durch konservative, nichtinvasive Diagnostik. In dieser Studie wurden bei allen Patienten mit DCM innerhalb von Tagen nach der Vorstellung Endomyokardbiopsien entnommen. Die dokumentierte Prävalenz der histologisch gesicherten Myokarditis innerhalb der Patienten mit DCM in allen Altersklassen variiert zwischen 9% und 89%, abhängig von diagnostischen Kriterien, dem Zeitpunkt der Endomyokardbiopsie und der Patientenauswahl (3,45,85,87,128,165).

Die Ätiologie der Myokarditis ist ausgesprochen vielfältig. Nach der Häufigkeit spielt in Europa die Virusätiologie im Kindesalter sicherlich die größte Rolle, wobei grundsätzlich alle Viren in Betracht kommen. Unter den RNA-Viren sind es besonders häufig Coxsackie- und ECHO-Viren, andere seltene Picorna-, Poliomyelitis-, Rhino-, Arbo-, Gelbfieber-, Influenza-, Röteln- und Masernviren; unter den DNA-Viren Herpes- und Pockenviren sowie nicht klassifizierbare Hepatitis- und Mononukleose-Viren.

Tabelle 4 zeigt neben eigenen Befunden die Ergebnisse der Virus-PCR in Myokardbiopsien zusammengefasst einerseits aus einer großen multizentrischen nordamerikanischen Studie mit 773 Patienten (Bowles et al), davon 596 Kindern (24), andererseits die Biopsieergebnisse einer deutschen multizentrischen Therapiestudie (TCMC, 141), die eine sehr unterschiedliche Verteilung mit einem sehr hohen Anteil an PVB19-Virus zeigt. Dieses Virus war bislang überwiegend als Auslöser des harmlosen Erythema infectiosum, transients erythroider Aplasien und nur bei Frühgeborenen eines schweren aplastischen Hydrops bekannt (143). In jüngerer Zeit häufen sich aber Beschreibungen über PVB19-verursachte Myokarditiden (24,29,30,48, 123).

	Bowles NE	TCMC-Studie	Eigene Ergebnisse
Adenovirus	23%	9%	0,4%
Enterovirus	14%	22%	3,8%
CMV	3%	-	2,0%
PVB 19	<1%	56%	13,3%
HSV 1	<1%	-	0%
EBV	<1%	17%	4,2%
RSV	<1%	-	0%
HHV 6	-	22%	0%

Tabelle VIII: Häufigkeit viraler Genome in Endomyokardbiopsien nach Bowles NE et al. (24), TCMC-Studie (141) und eigene Untersuchungsergebnisse

Martin et al. (108) fanden mittels PCR unter 26 Virus-positiven Patienten 15-mal Adeno-, 8-mal Enteroviren, 2-mal HSV und 1-mal CMV. Bei 40 weiteren immunsupprimierten Patienten (Kinder nach Herztransplantation) wurden Zytomegalieviren (16-mal) am häufigsten gefunden vor Adenoviren (14-mal), Enteroviren (6-mal), PVB19 (3-mal) und HSV (2-mal). PVB19 wurde im Rahmen der Myokarditisstudie von Schmaltz et al. (144) bei 16 Kindern aus 12 verschiedenen Zentren (entsprechend 5% der biopsierten Kinder) mittels PCR und ISH als Ursache einer Myokarditis gefunden, was auch von anderen Autoren bestätigt wird (15,20,58,104,138,145,146,147).

In der Arbeit von Calabrese et al. (33) wurde die Infektion durch Adenoviren genau so häufig nachgewiesen wie die durch Enteroviren. Diese Ergebnisse weisen auf die Bedeutung der Adenovirus-Infektion als Ursache der viralen akuten Myokarditis im Kindesalter hin (108). Andererseits spielen Enteroviren eine große Rolle (117%) bei den chronischen Verlaufsformen der Myokarditis wie von Archand et al. (8) und Fujioka et al. (52) gezeigt wurde. In Fällen von Myokarditis mit PCR negativen Ergebnissen spielt womöglich die Erregerbeseitigung durch das Myokard eine Rolle oder es handelt sich um Infektionen durch weniger verbreitete kardiotope Viren, die nicht untersucht wurden (33).

Durch In-situ-Hybridisierung konnte gezeigt werden, dass Enteroviren über eine lytische Infektion der Myozyten eine akute Myokarditis initiieren, sodann aber auch als persistierendes Pathogen eine chronische Entzündungsreaktion aufrecht erhalten können (79). Bei einer signifikanten Anzahl von Patienten resultiert dies in einem Verlust von Myozyten, in der Degeneration des kontraktiles Apparates mit reaktiver Myokardfibrose bis hin zur Dilatation des Herzmuskels und myokardialer Dysfunktion (77). Im Gegensatz zu den Enteroviren infiziert PVB19, im Herzmuskel keine Myozyten sondern Endothelzellen von Kapillaren, Arteriolen und Venolen (79). Als überaus bedeutsam erschien die Beobachtung, dass PVB19 aufgrund seiner Affinität zu Endothelien eine Mikrozirkulationsstörung des Herzens induzieren kann mit sekundären, nicht PVB19 assoziierten Muskelzellnekrosen, die bei einem Teil der Patienten trotz unauffälliger Koronarien mit den klinischen Zeichen eines Myokardinfarktes einhergehen kann (29,84).

Der Verlauf einer viralen Myokarditis ist initial schwierig absehbar. Bei ungefähr 2/3 der Kinder erholt sich die ventrikuläre Funktion vollständig innerhalb von 2-3 Monate, 10-20% entwickeln eine dilatative Kardiomyopathie und 10-20% müssen transplantiert werden oder sterben (94).

Im eigenen Patientenkollektiv wurden folgende Zahlen zur Prognose dokumentiert: In der Gruppe mit der Diagnose akute Myokarditis wurden zu insgesamt 6 Patienten Angaben zum klinischen Verlauf gemacht: 3 Patienten verstarben, bei 3 weiteren Patienten zeigte sich eine Besserung des Befundes. Die Borderline Myokarditis wurde bei 39 Kindern und Jugendliche diagnostiziert, bei 19 Patienten liegen Angaben zum klinischen Verlauf vor: 2 Patienten wurden herztransplantiert, 3 Patienten verstarben, bei 3 Patienten wurde eine Verschlechterung dokumentiert, 11 Patienten zeigten eine Besserung. In der Gruppe mit der Diagnose DCMi liegen bei 2 Patienten klinische Daten vor: Beide wurden symptomatisch therapiert, bei einem Patienten trat eine Besserung ein, der zweite Patient zeigte eine Verschlechterung. Die Diagnose Zustand nach Myokarditis in den konsekutiven Biopsien wurde bei 26 Kindern und Jugendlichen gestellt, der klinische Verlauf wurde bei 21 Patienten dokumentiert: 8 Patienten verstarben (prozentualer Anteil 38%). In der Gruppe der chronischen Myokarditis wurde der klinische Verlauf bei lediglich einem Patienten dokumentiert: es kam zu einer Verbesserung des Befundes unter einer symptomatischen Therapie.

Eine Therapiestudie zur Myokarditis (111) auf der Basis von 111 eingeschleusten erwachsenen Patienten ergab folgende Zahlen zur Prognose: die Mortalitätsrate betrug nach einem Jahr 20% und nach 4,3 Jahren 56%. Dagegen zeigte eine Gruppe mit fulminanter Myokarditis aus dem Johns-Hopkins-Hospital (113) mit 93% ein wesentlich besseres Überleben, während die Patienten mit nicht-fulminanter, akuter Myokarditis nur in 45% ohne Herztransplantation überlebten. In einer spanischen Studie an 99 Patienten mit akuter Myokarditis, die nicht immunsuppressiv behandelt waren, starben in einem 8-Jahres-Zeitraum 13% (oder wurden transplantiert), 70% besserten sich vollständig und 17% gingen in eine dilatative Kardiomyopathie über (161). Im Kindesalter ist die Mortalität eher etwas höher: Schmalz und Mitarbeiter (144) fanden eine Mortalität von 25%. Lee et al. (90) erfassten 36 Patienten, 34 davon mit Steroiden behandelt: Nach einem Monat überlebten (ohne Herztransplantation) 86%, nach zwei Jahren 79%, was einer Mortalität von 21% entspricht.

An Therapiemöglichkeiten bietet sich nach wie vor und in ihrem Wert unbestritten die konventionelle antikongestive Therapie mit Bettruhe, Diuretika, ACE-Hemmer und – je nach Ausmaß der Herzinsuffizienz – vorsichtige Digitalisierung oder Einsatz von Katecholaminen unter intensiv-medizinischen Bedingungen (144). Beim foudroyanten Verlauf kann zur Aufrechterhaltung bzw. Wiederherstellung einer ausreichenden Kreislauffunktion der Einsatz der extrakorporalen Membranoxygenierung (ECMO) oder mechanischer Kreislaufpumpen angezeigt sein, über deren erfolgreichen Einsatz schon im Kindesalter bereits berichtet wurde (36,38,154), ebenso wie die Möglichkeit der Herztransplantation (26).

Die hochdosierte intravenöse Gabe von γ -Globulinen wurde ebenfalls empfohlen: Drucker et al. (47) berichteten 1994 über 21 Kinder mit akuter Myokarditis, die γ -Globuline (2g/kg/24h) zusätzlich zur konventionellen Therapie erhielten und verglichen sie mit einer historischen Kontrollgruppe: Unter der Vermutung einer Modulation der Immunantwort und Down-Regulation entzündungsfördernder Zytokine sahen sie bei ihrem Vergleich eine Tendenz zur besseren Überlebenschance und funktioneller Erholung.

Die molekularpathologische Diagnose einer Virusinfektion des Herzmuskels rechtfertigt ein Umdenken hinsichtlich therapeutischer Konsequenzen. Eine immunsuppressive Therapie mit Kortikosteroiden ist nicht gerechtfertigt, da hierdurch in der Regel die Virusreplikation erhöht und das endogene Interferonsystem gehemmt wird. Somit

erscheint eine immunsuppressive Therapie nur bei virusnegativen Autoimmunmyokarditiden indiziert (77). Wie schon im Tierversuch gezeigt, verschlimmern Kortikosteroide den Verlauf einer akuten Virusmyokarditis und können eine chronisch persistierende Infektion reaktivieren (71,160). Dagegen schwächt Interleukin 10 die entzündliche Läsion ab und lässt infizierte Mäuse in signifikant höherem Prozentsatz überleben (126). Interferon- α (IFN- α) reduziert die Viruslast in kultivierten Myokard-Fibroblasten (60). Tacrolimus und 15-Deoxyspergualin (DSG) haben einen günstigen Einfluss auf die Autoimmun-Myokarditis der Maus, verschlimmern aber die Virusmyokarditis (80,81). So ist es nicht überraschend, dass der große, 1985 gestartete prospektive, randomisierte, US-amerikanische „myokarditis treatment trial“ bei der Überprüfung der immunsuppressiven Therapie der Myokarditis keinen Unterschied zwischen der konventionellen antikongestiven Therapie und einer zusätzlichen Gabe von Immunsuppressiva ergab (111). Diese Studie beruhte im Wesentlichen auf den lichtmikroskopischen Dallas-Kriterien, eine Unterscheidung in Virusmyokarditis oder Autoimmun-Myokarditis erfolgte nicht. Nur 64% der Biopsien wurden durch Pathologen reevaluiert. Ein molekularpathologischer Nachweis von Virusgenom erfolgte nicht. So wurden auch vermutlich Patienten mit Viruspersistenz immunsuppressiv behandelt, weshalb im entsprechenden Behandlungsarm die Ergebnisse nicht besser waren (144). Demgegenüber zeigte eine Therapie mit Interferon oder TFX-Thymomodulin bei insgesamt 180 Patienten mit einer Myokarditis einen positiven Effekt auf die linksventrikuläre Funktion, Belastungstoleranz und Überlebensrate (120). Heim et al. (59) zeigten bei einer Patientin mit enterovirusbedingter Myokarditis eine hämodynamische Verschlechterung unter immunsuppressiver Therapie, während eine anschließende Interferon-Therapie die Viren erfolgreich eliminieren konnte. Umgekehrt konnten Schmalz et al. (141) an drei Kindern mit autoimmunvermittelter Virus-negativer, chronischer Myokarditis eine deutliche Besserung von Klinik und LV-Funktion unter immunsuppressiver Therapie beobachten.

Der Einwand der mangelnden Virusgenomdiagnostik gilt auch für die Therapiestudien im Kindesalter, die zwar einen positiven Effekt der immunsuppressiven Therapie beschreiben, aber nicht randomisiert und prospektiv sind, teilweise keine Vergleichsgruppe haben oder nur kleine Zahlen aufweisen (34,76,90).

Die pathogenetischen Konzepte der akuten Myokarditis und damit assoziierter chronischer Kardiomyopathien (chronische Myokarditis, dilatative Kardiomyopathie) wurden in den vergangenen Jahrzehnten ständig weiterentwickelt (17, 109, 115). Historisch gesehen, wurde die akute Myokarditis in den 50er Jahren in Zusammenhang mit der Entdeckung der Coxsackieviren als virale Erkrankung erkannt. Das Unvermögen konventioneller virologischer und pathologischer Untersuchungsmethoden zum Nachweis einer Virusinfektion in Endomyokardbiopsien führte zum Konzept der Autoimmunätiologie der Myokarditis im Sinne eines postviralen immunologisch vermittelten Krankheitsprozesses. Mit den jetzt zur Verfügung stehenden molekularpathologischen Techniken gelingt der Nachweis der Virusätiologie auch bei chronischen Formen der Myokarditis, wobei klinische und experimentelle Studien nahe legen, dass die chronische Enterovirus- und PVB19-assoziierte Myokarditis bis hin zur terminalen dilatativen Kardiomyopathie in Abhängigkeit von bislang unbekanntem genetischen Faktoren mit Viruspersistenz assoziiert sein kann. Das Virus initiiert den Krankheitsprozess mit virusinduzierten nekrobiotischen Veränderungen von Myozyten während der akuten Phase der Virusreplikation und kann sodann als persistierendes virales Pathogen eine chronische Entzündungsreaktion aufrechterhalten oder aber auch in eine latente Infektion übergehen (67). Bei einer signifikanten Anzahl von Patienten resultiert dies in einem Verlust von Myozyten, in Hypertrophie und Degeneration des kontraktilen Apparates mit reaktiver Myokardfibrose bis hin zur Dilatation des Herzmuskels und myokardialer Dysfunktion (105, 155).

Der pathogenetische Weg vom Coxsackie-Virusinfekt zu den assoziierten Herzmuskelerkrankungen (chronische Myokarditis, DCM) sieht wie folgt aus (97, 144): Das Virus wird an zelluläre Rezeptorproteine der Zellmembran gebunden und in die Zelle eingeschleust (Endozytose). Das virale Genom besteht aus einem einzelsträngigen RNA-Molekül positiver Polarität, das bei Replikation in eine RNA mit negativer Polarität transkribiert wird (78,131). Die Viren breiten sich dann von Zelle zu Zelle aus und verursachen noch vor der Einwanderung von Entzündungszellen eine Zellyse. Zwischen Tag 12 und 15 wird das Maximum der entzündlichen Infiltration beobachtet, bestehend aus Makrophagen, zytotoxischen T-Lymphozyten und T-Helferzellen. Als Folge ihrer protektiven Eigenschaften nimmt die Anzahl der infizierten Zellen ab bis hin zur völligen Ausschaltung der Viren und der folgenlosen Ausheilung des Virusinfektes. Alternativ kann es im foudroyanten Verlauf zur Myozytennekrose,

Ruptur der Plasmamembran und kompletten Destruktion der Myofilamente im unterschiedlichen Ausmaß kommen (71).

Zunächst in verschiedenen Mausmodellen, dann auch beim Menschen konnte gezeigt werden, dass in Abhängigkeit von bislang unbekanntem Wirtsfaktoren das Virus bei niedriger Replikationsrate in kardialen Myozyten persistieren und dort einen chronischen Entzündungsprozess unterhalten kann (69,78), der durch den Nachweis von T-Lymphozyten und Entzündungsmediatoren wie Interleukin-1 β und Tumornekrose-Faktor- α charakterisiert ist. Aber auch im Stadium ohne Entzündungszeichen, dem Stadium der dilatativen Kardiomyopathie kann in 17% (abhängig von der Nachweismethode teilweise auch höher) Virusgenom nachgewiesen werden (78,86).

Interessant für die akute PVB19-assoziierte Myokarditis sind pathogenetische Befunde, die kürzlich von Bültmann et al publiziert wurden (28,29,30). Es konnte mit Hilfe der radioaktiven in situ-Hybridisierung gezeigt werden, dass die Zielzellen der Parvoviren nicht die Herzmuskelzellen sind, sondern die Endothelien im Bereich von Kapillaren und postkapillären Venolen. Die Infektion der Endothelzellen ging einher mit einer verstärkten Expression von E-Selektin als morphologisches Äquivalent einer endothelialen Dysfunktion, die ihrerseits charakterisiert war durch eine verstärkte Adhärenz und Penetration von T-Lymphozyten in angrenzendes myokardiales Gewebe mit sekundären, nicht virusassoziierten Schädigungen der Herzmuskelzellen. Somit ist die PVB19-assoziierte akute Myokarditis pathogenetisch abzugrenzen von Enterovirus-assoziierten Myokarditiden, in denen Herzmuskelzellen Zielzellen der Infektion sind mit Zerstörung dieser Zellen durch einen Enterovirus-assoziierten zytopathischen Effekt (29). Aus klinischer Sicht ist bemerkenswert, dass die akute PVB19-assoziierte Myokarditis einen Herzinfarkt vortäuschen kann, offensichtlich bedingt durch die Virus-induzierte endotheliale Dysfunktion in der mikrozirkulatorischen koronaren Peripherie mit sekundären Herzmuskelzellnekrosen (29).

Die Mehrzahl der in dieser Arbeit untersuchten Patienten zeigte bereits bei der Erstbiopsie eine chronisch-persistierende PVB19-Infektion. Morphologisch lag eine Borderline Myokarditis vor, die immunhistologisch charakterisiert war durch eine erhöhte Anzahl von aktivierten immunkompetenten interstitiellen Makrophagen. In der PCR gelang der Nachweis von PVB19-positiven Genomen bei 9 Patienten von insgesamt n=39 Patienten mit Borderline-Myokarditis. PVB19 ist offensichtlich in der

Lage, eine chronische Entzündung nicht nur auszulösen sondern auch zu unterhalten. Noch ist unklar, in welchen myokardialen Gewebestandteilen sich das PVB19-Genom bei den chronischen Verlaufsformen verbirgt. Die viralen Strategien, in einem Gewebe zu persistieren bei gleichzeitig geringer Virusreplikation, sind zur Zeit weitgehend unbekannt, die angeborenen bzw. erworbenen immunologischen Faktoren, die verantwortlich sind für einen persistierenden Phänotyp einer Virusinfektion, sind nur teilweise identifiziert worden (28,29,30). Das pathogenetische Konzept einer persistierenden PVB19-Infektion wird durch die Untersuchung der PVB19-positiven Konsekutivbiopsie bestätigt, bei der wiederum eine chronisch persistierende Virusinfektion gefunden wurde, morphologisch charakterisiert durch eine chronische Myokarditis, die in der Konsekutivbiopsie zusätzlich begleitet war durch eine zunehmende interstitielle Fibrose des Myokards im Sinne einer Remodelierung. Neben dem Weg der chronischen Entzündung durch Viruspersistenz (67,68,69,70,78,86,130,131) wird auch ein autoimmunologischer Mechanismus mit virusbedingter Entstehung von Neoantigenen und kreuzreagierenden Antigenen diskutiert (32,61,83,88,95,98,100,101,129,132,149). Unter den zahlreichen kardialen Antigenen (Sarkolemm, Myolemm, Fibrillen, Aktin, Myosin, Z-Streifen, Mitochondrien und anderen), gegen die Antikörper gebildet werden können, spielen die antimyolemmalen und Antimyosin-Antikörper die wesentliche Rolle, allerdings ohne 100%ige Spezifität (32,98). Ist der Entzündungsprozess abgeklungen, bleibt das uncharakteristische histologische Bild der Fibrose mit Hypertrophie von einzelnen Myofibrillen und ultrastrukturellen degenerativen Veränderungen bei klinisch dilatierten, funktionseingeschränktem Herzen (= DCM) (144).

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass durch eine gezielte histologische, immunhistologische und molekularpathologische Diagnostik von Endomyokardbiopsien die Ätiologie und Pathogenese speziell der entzündlichen Kardiomyopathien zunehmend besser charakterisiert werden kann mit entsprechenden therapeutischen Konsequenzen.

7 Zusammenfassung

Ausgangsposition und Ziele der vorliegenden Arbeit:

Primäre und spezifische Kardiomyopathien sind trotz ihrer relativen Seltenheit im Kindesalter klinisch bedeutsam wegen ihrer signifikanten Morbidität und Mortalität. Eine rasche Diagnosestellung und eine daraus resultierende effektive Therapie sind Voraussetzung für eine optimale Betreuung sowie mitentscheidend für die Vermeidung von Komplikationen und für das Überleben der Patienten. Bei der Literaturanalyse der Herzmuskelerkrankungen im Kindesalter fällt auf, dass unter epidemiologischen, klinischen, morphologischen und molekularpathologischen Aspekten die jeweiligen Krankheitsbilder - teilweise bedingt durch geringe Fallzahlen - nur inkonsequent beschrieben worden sind. Ebenfalls ungeklärt bleibt in zahlreichen Fällen die Ätiologie, Therapie und Prognose dieser Erkrankungen. Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, anhand von Endomyokardbiopsien (Erst- und Konsekutivbiopsien) in Kombination mit klinischen Daten die Prävalenz, die klinische, morphologische und molekularpathologische Manifestation und den Verlauf einzelner Herzmuskelerkrankungen besser zu charakterisieren unter besonderer Berücksichtigung der entzündlichen Kardiomyopathie (Myokarditis).

Material und Methodik:

In der vorliegenden Arbeit wurden formalinfixierte und paraffineingebettete Endomyokardbiopsien von 205 Kindern und Jugendlichen im Alter zwischen 0,1 bis 16 Jahren, die dem Tübinger Institut für Pathologie aus 91 kinder-kardiologischen Abteilung zwischen 1993 – 2005 zur kardiopathologischen Diagnostik eingesandt wurden, zunächst mit routinehistologischen Methoden untersucht mit dem Ziel, die verschiedenen Krankheitsbilder morphologisch nach der WHO/ISFC-Klassifikation der Kardiomyopathien einzuordnen. Die bei allen Endomyokardbiopsien zusätzlich durchgeführte immunhistologische Untersuchung diente der Aufdeckung und Charakterisierung entzündlicher Herzmuskelerkrankungen, die nach der Dallas-Klassifikation der Myokarditis eingeteilt wurden. Die ebenfalls bei allen Endomyokardbiopsien durchgeführte molekularpathologische Diagnostik (Polymerase-Kettenreaktion, in situ-Hybridisierung) diente dem ursächlichen Nachweis kardiotroper

Erreger, die für die Entstehung einer Myokarditis verantwortlich gemacht werden. Soweit vorhanden, wurden auch klinische Daten zur Diagnostik, Verlauf und Therapie der jeweiligen Krankheitsbilder berücksichtigt. Bei 35 Patienten lagen konsekutive Endomyokardbiopsien vor.

Ergebnisse und Diskussion:

In guter Übereinstimmung mit in der Literatur dokumentierten Daten ergab sich in der vorliegenden Arbeit eine Prävalenz von primären Kardiomyopathien bei n=98 Patienten (47,8 %) mit folgenden morphologischen Diagnosen: Idiopathische dilatative Kardiomyopathie n=81, restriktive Kardiomyopathie n=7, hypertrophische Kardiomyopathie n=6, arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie n=2 und Fibroelastose n=2 Patienten. Die zweithäufigste Diagnosegruppe mit n=51 Patienten (24,8 %) bei der Erstbiopsie war die entzündliche Kardiomyopathie mit folgenden Befunden: Akute Myokarditis n=9, Borderline-Myokarditis n=39 und DCMi n=2 Patienten. Bei den konsekutiven Biopsien (n=35 Patienten) wurden in n=4 Fällen eine chronische Myokarditis und bei n=26 Patienten ein Zustand nach Myokarditis diagnostiziert. Bei Durchsicht der Literatur fällt auf, dass es praktisch keine Arbeiten gibt, die eine vergleichende Aussage über die relative Häufigkeit von primären Kardiomyopathien im Kindesalter im Vergleich zur Inzidenz entzündlicher Herzmuskelkrankungen in ein und denselben Patientenkollektiv beschreibt.

Die molekularpathologische PCR-Erregerdiagnostik erbrachte in der Erstbiopsie bei n=52 von 205 Patienten (25,4 % in den Erstbiopsien und bei 8 von 35 Patienten (22,5 %) in den Konsekutivbiopsien einen positiven Nachweis eines kardiotropen Erregers mit folgender Häufigkeit: Parvovirus-B19 n=32 (53,4 %), Epstein-Barr-Virus n=10 (16,6 %), Enteroviren n=9 (15 %) und sonstige Erreger n=9 (15 %). Die Zuordnung dieser Virus-positiven molekularpathologischen Befunde zu den morphologischen Diagnosen ergab unter Berücksichtigung einer fehlenden bzw. begleitenden myokardialen Entzündung folgende Enddiagnosen: Akute Myokarditis im Sinne einer akuten Virusinfektion n=6 Fälle, Borderline-Myokarditis oder chronische Myokarditis im Sinne einer persistierenden Virusinfektion n=17 Fälle, Virus-positive Fälle ohne begleitende

Entzündungsreaktion im Sinne einer latenten Virusinfektion ohne ätiologische und pathogenetische Relevanz n=37 Fälle. Über die Prävalenz kardiotroper Erreger in Endomyokardbiopsien, speziell bei der Myokarditis und der dilatativen Kardiomyopathie gibt es in der Literatur unterschiedliche Angaben, die teilweise dadurch erklärt werden können, dass häufig erst sehr spät nach kardialen Erkrankungsbeginn eine Endomyokardbiopsie durchgeführt wird, also zu einem Zeitpunkt, bei dem die verantwortlichen Erreger offensichtlich durch körpereigene Abwehrmechanismen bereits aus dem Myokard eliminiert wurden. Auch in der hier vorgelegten Studie wurden bei Patienten mit akuter Myokarditis durchschnittlich erst nach 2,4 Monaten, bei der Borderline-Myokarditis nach 12 Monaten und bei der dilatativen Kardiomyopathie durchschnittlich nach 46,8 Monaten eine Endomyokardbiopsie zur ätiologischen Abklärung des kardialen Befundes nach Erkrankungsbeginn durchgeführt.

Pathogenetisch interessant sind Befunde der in situ-Hybridisierung: Bei der akuten Coxsackie-Virusmyokarditis sind die Herzmuskelzellen, bei der akuten Parvovirus-B19-assoziierten Myokarditis die Endothelzellen der koronaren Mikrozirkulation die Zielzellen der jeweiligen Infektion.

Hinsichtlich der Prognose der dilatativen und entzündlichen Kardiomyopathie bleibt folgendes festzuhalten: Die schlechteste Prognose wiesen die Patienten (n=52) mit einer idiopathischen dilatativen Kardiomyopathie auf, bei denen es in 73 % der Fälle zu einer zunehmenden Herzinsuffizienz kam, die in 4 Fällen zu einer Herztransplantation oder in 12 Fällen zum Tode führte. Bei 27 Patienten mit einer entzündlichen Kardiomyopathie kam es in 42-45 % der Fälle zu einer Verschlechterung der kardialen Symptomatik, die in 2 Fällen zur Herztransplantation bzw. in 7 Fällen zum Tode führte.

Schlussfolgerungen:

In der vorgelegten Studie konnte aufgezeigt werden, dass die Endomyokardbiopsie heute unter Anwendung moderner Methoden den diagnostischen Goldstandard zur Abklärung von primären und sekundären Kardiomyopathien im Kindesalter darstellt, speziell in der Differentialdiagnose einer idiopathischen versus entzündlichen Kardiomyopathie. Insbesondere die molekularpathologische Diagnostik zum Nachweis

oder Ausschluss einer kardiotropen Virusinfektion rechtfertigt ein Umdenken hinsichtlich therapeutischer Konsequenzen. Zukünftige Studien zur Diagnostik, Prognose und Therapie kindlicher Kardiomyopathien sollten deshalb die Endomyokardbiopsie zum frühestmöglichen Zeitpunkt nach kardialem Erkrankungsbeginn beinhalten.

8 Literaturverzeichnis

1. Abelmann W.H. Viral Myokarditis and its sequelae. *Annu Rev Med* 1973;24:145-152
2. Abelmann W.H. Classification and natural history of primary myocardial disease. *Prog Cardiovasc Dis* 1984;27:73-94
3. Abelmann W.H., Baim D.S., Schnitt S.J. Endomyocardial biopsy: is it of clinical value? *Postgrad Med J* 1992;68(Suppl 1):44-46
4. Akagi T., Benson L.N., Lightfoot N.E., et al. Natural history of dilated cardiomyopathy in children. *Am Heart J* 1991;121:1502-1506
5. Akhtar N., Ni J., Stromberg D., et al. Tracheal aspirate as a substrate for polymerase chain reaction detection of viral genome in childhood pneumonia and myocarditis. *Circulation* 1999;99:2011-2018
6. Al-Khadra A.S., Salem D.N., Rand W.M., et al. Warfarin anticoagulation and survival: a cohort analysis from the studies of left ventricular dysfunction. 1998;31:749-753
7. Arbustini E., Gavazzi A., Dal Bello B., et al. Ten-years experience with endomyocardial biopsy in myocarditis presenting with congestive heart failure: frequency, pathologic characteristics, treatment and follow-up. *G Ital Cardiol* 1997;27:209-223
8. Archard L.C., Khan M.A., Soteriou B.A., et al. Characterization of Coxsackie B virus RNA in myocardium of patients with dilated cardiomyopathy by nucleotide sequencing of reverse transcription-nested polymerase chain reaction products. *Hum Pathol* 1998;29:578-584
9. Aretz H., Billingham M., Edwards W. et al. Myocarditis: a histopathologic definition and classification. *Am J Cardiovasc Pathol* 1986;1:3-14
10. Arola A., Jokinen E., Ruuskanen O. et al. Epidemiology of idiopathic cardiomyopathies in children and adolescents. *Am J Epidemiol* 1996;146:385-393
11. Arola A., Tuominen J., Ruuskanen O., Jokinen E. Idiopathic dilated cardiomyopathy in children: prognostic indicators and outcome. *Pediatr* 1998;101:369-376
12. Bagger J.P., Baandrup U., Rasmussen K., et al. Cardiomyopathy in western Denmark. *Br Heart J* 1984;52:327-331
13. Balaji S., Wiles H.B., Sens M.A., et al. Immunosuppressive treatment for myocarditis and Borderline myocarditis in children with ventricular ectopic rhythm. *Br Heart J* 1994;72:354-359
14. Banatvala J.E., ed. *Viral infections of the heart*. London-Boston-Melbourne-Auckland: Hodder & Stoughton 1990

15. Bastanier C.K., Schmaltz A.A., Kandolf R., et al. Parvo B-19 Infektion des Herzens. Ein ätiologischer Faktor zur Entstehung Dilatativer Kardiomyopathien im Kindesalter? *Z Kardiol* 1999;88:728 =50,3
16. Baughman K.L. Death of Dallas criteria. *Circulation* 2006;113:593-595
17. Becker A.E. Myocarditis. In: Silver M.D. Ed. *Cardiovascular pathology*. Edinburgh-London-New York: Ch. Livingstone, 1991:1:719-741
18. Bilgig A., Ozbarlas N., Ozkutlu S., Ozme S. Cardiomyopathies in children: clinical, epidemiological, and prognostic evaluation. *Jpn Heart J* 1990;31:789-797
19. Bonnet D., de Lonlay P., Gautier I., et al. Efficiency of metabolic screening in childhood cardiomyopathies. *Eur Heart J* 1998;19:790-793
20. Boreda D., Palomera S., Gilbert B., et al. 24 cases of human Parvovirus B19 infection in children. *Ann Pediatr* 1992;39:543-549
21. Boucek M.M., Faro A., Novick R.J., et al. The registry of the International Society of Heart and Lung Transplantation: Third official pediatric report-1999. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:1151-1172
22. Bowles K.R., Gajarski R., Porter P., et al. Gene mapping of familial autosomal dominant dilated cardiomyopathy to chromosome 10q21-23. *J Clin Invest* 1996;98:1355-1360
23. Bowles N.E., Kearney D.L., Ni J., et al. The detection of virus genomes by polymerase chain reaction in the myocardium of pediatric patients with advanced HIV disease. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:857-865
24. Bowles N.E., Kearny D.L., et al. Detection of viruses in myocardial tissues of polymerase chain reaction: evidence of adenovirus as a common cause of myocarditis in children and adults. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:466-472
25. Bowles N., Towbin J. Viral heart muscle disease in children. *Newsletter Sci Council on Cardiomyopathies* 1996;11:4-5
26. Braun D., Bernstein D., Starnes V.A., et al. Pediatric heart transplantation at Stanford: results of a 15-year experience. *Pediatr* 1991;88:203-214
27. Bültmann B.D., Kandolf R. Persönliche Mitteilung 1997
28. Bültmann B.D., Klingel K., Sotlar K. et al. Fatal Parvovirus B19 associated myocarditis clinically mimicking ischemic heart disease: an endothelial cell-mediated disease. *Hum Pathol* 2003;34:8-17
29. Bültmann B.D., Klingel K., Sotlar K. et al. Parvovirus B19: a pathogen responsible for more than hematologic disorders. *Virchows Arch* 2002;442(1):8-17

30. Bültmann B.D., Sotlar K., Klinger K.: Parvovirus B19. *N Engl J Med* 2004;350:2006-2007
31. Burch M., Siddiqi S.A., Celermajer D.S. et al. Dilated cardiomyopathy in children: determinants of outcome. *Br Heart J* 1994;72:246-250
32. Caforio A.L.P., Goldmann J.H., Haven A.J., et al. Circulating cardiac-specific autoantibodies as markers of autoimmunity in clinical and biopsy-proven myocarditis. *Europ Heart J* 1997;18:270-275
33. Calabrese F., Rigo E., Milanese O., et al. Molecular diagnosis of myocarditis and dilated cardiomyopathy in children: clinicopathologic features and prognostic implications. *Diag Molec Pathol* 2002;11(4):212-221
34. Camargo P.R., Snitcowsky P., da Luz P.L., et al. Favorable effects of immunosuppressive therapy in children with dilated cardiomyopathy and active myocarditis. *Pediatr Cardiol* 1995;16:61-68
35. Cetta F., Michels V.V. The natural history and spectrum of idiopathic dilated cardiomyopathy, including HIV and peripartum cardiomyopathy. *Curr Opin Cardiol* 1995;10:332-338
36. Chen J.M., Spanier T.B., Gonzalez J.J., et al. Improved survival in patients with acute myocarditis using external pulsatile mechanical ventricular assistance. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:351-357
37. Chen S.C., Nouri S., Balfour I., et al. Clinical profile of congestive cardiomyopathy in children. *J Am Coll Cardiol* 1990;15:189-193
38. Chen Y.S., Wang M.J., Chou N.K., et al. Rescue for acute myocarditis with shock by extracorporeal membrane oxygenation. *Ann Thorac Surg* 1999;69:2220-2224
39. Chow L.H., Radio S.J., Sears T.D., et al. Insensitivity of right ventricular endomyocardial biopsy in the diagnosis of myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 1989;14:915-920
40. Ciszewski A., Bilinska Z.T., Lubiszewska B. et al. Dilated cardiomyopathy in children: clinical course and prognosis. *Pediatr Cardiol* 1994;15:121-126
41. Codd M.B., Sugrue D.D., Gersh B.J., et al. Epidemiology of idiopathic dilated and hypertrophic cardiomyopathy: a population-based study in Olmsted County, Minnesota, 1975-1984. *Circulation* 1989;80:564-572
42. Coughlin S.S., Comstock G.W., Baughman K.L. Descriptive epidemiology of idiopathic dilated cardiomyopathy in Washington County, Maryland, 1975-1991. *J Clin Epidemiol* 1993;46:1003-1008
43. Csanady M., Högye M., Kallai A., et al. Familial dilated cardiomyopathy: a worse prognosis compared with sporadic forms. *Br Heart J* 1995;74:171-173

44. D'Ambrosio A., Patti G., Manzoli A., et al. The fate of acute myocarditis between spontaneous improvement and evolution to dilated cardiomyopathy: a review. *Heart* 2001;85:499-504
45. Dec G.W., Palacios I.F., Fallon J.T., et al. Active myocarditis in the spectrum of acute dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1985;312:885-890
46. deSa D.J. Isolated myocarditis as a cause of sudden death in the first year of life. *Forensic Sci Int* 1986;30:113-117
47. Drucker N.A., Colan S.D., Leweis A.B., et al. γ -globulin treatment of acute myocarditis in the pediatric population. *Circulation* 1994;89:252-257
48. Enders G., Dotsch J., Bauer J., et al. Life-threatening parvovirus B19-associated myocarditis and cardiac transplantation as possible therapy; two case reports. *Clin Infect Dis* 1998;26:355-358
49. Felker G.M., Thompson R.E., Hare J.M., et al. Underlying causes and long-term survival in patients with initially unexplained cardiomyopathy. *N Engl J Med* 2000;342:1077-1084
50. Ferencz C., Neill C.A. Cardiomyopathy in infancy: observations in an epidemiologic study. *Pediatr Cardiol* 1992;13:65-71
51. Friedmann R.A., Moak J.P., Garson A. Clinical course of idiopathic dilated cardiomyopathy in children. *J Am Coll Cardiol* 1991;18:152-156
52. Fujioka S., Kitaura Y., Ukimura A., et al. Evaluation of viral infection in the myocardium of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:1920-1926
53. Gillum R.F. Idiopathic cardiomyopathy in the United States, 1970-1982. *Am Heart J* 1986;111:752-755
54. Greenwood R.D., Nadas A.S., Fyler D.C. The clinical course of primary myocardial disease in infants and children. *Am Heart J* 1976;92:549-560
55. Grenier M.A., Osganian S.K., Cox G.F., et al. Design and implementation of the North American Pediatric Cardiomyopathy Registry. *Am Heart J* 2000;139:86-95
56. Griffin M.L., Hernandez A., Martin T.C., et al. Dilated cardiomyopathy in infants and children. *J Am Coll Cardiol* 1988;11:139-144
57. Günthard J., Stocker F., Bolz D., et al. Dilated cardiomyopathy and thromboembolism. *Euro J Pediatr* 1997;156:3-6
58. Hebert M.M., Yu C., Towbin J.A., et al. Fatal Epstein Barr virus myocarditis in a child with repetitive myocarditis. *Ped Pathol Lab Med* 1995;15:805-812

59. Heim A., Stille-Siegener M., Kandolf R., et al. Enterovirus-induced myocarditis: Hemodynamic deterioration with immunosuppressive therapy and successful application of interferon- α . *Clin Cardiol* 1994;17:563-565
60. Heim A., Brehm G., Stille-Siegener M., et al. Cultured human myocardial fibroblasts of pediatric origin: natural human interferon- α is more effective than recombinant interferon- α 2a in carrier-state B3 replication. *J Mol Cell Cardiol* 1995;27:2199-2208
61. Hengstenberg C., Rose M.L., Olsen E.G.J., Maisch B. Immune response of the endothelium in myocarditis, dilated cardiomyopathy and rejection after heart transplantation. *Eur Heart J* 1991;12:SupplD:147-151
62. Heusch A., Kühl U., Rammos S., et al. Complete AV-block in two children with immunohistological proven myocarditis. *Eur J Pediatr* 1996;155:633-636
63. Ino T., Benson L.N., Freedom R.M., et al. Natural history and prognostic risk factors in endocardial fibroelastosis. *Am J Cardiol* 1988;62:431-434
64. Jaeggi E.T., Suter S. Klinik, Diagnose und Behandlung entzündlicher Herzkrankheiten im Kindesalter. *Ther Umschau* 2001;58:87-93
65. Jiyuan N., Neil E., Youg-Hwue K., et al. Viral infection of the myocardium in endocardial fibroelastosis: molecular evidence for the role of mumps Virus as an etiologic agent. *Circulation* 1997;95:133-139
66. Kallenberg R., Andelfinger, Barth, et al. Myokarditis/DCM im Kindesalter *Z Kardiol* 1995;84:782
67. Kandolf R. Enterovirale Myokarditis und dilatative Kardiomyopathie. *Med Klin* 1998;93:215-222
68. Kandolf R., Ameis D., Kirschner P., et al. In situ detection of enteroviral genomes in myocardial cells by nucleic acid hybridization: an approach to the diagnosis of viral heart disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:6272-6276
69. Kandolf R., Klingel K., Zell R., et al. Molecular pathogenesis of Enterovirus-induced myocarditis: Virus persistence and chronic inflammation. *Intervirology* 1993;35:140-151
70. Kandolf R. Molekulare Pathogenese der Enterovirusmyokarditis. *Internist* 1995;36:430-438
71. Kandolf R., Sauter M., Aepinus C., et al. Mechanisms and consequences of enterovirus persistence in cardiac myocytes and cells of the immune system. *Virus Research* 1999;62:149-158
72. Kasper E.K., Agema W.R., Hutchins G.M., et al. The causes of dilated cardiomyopathy: a clinicopathologic review of 673 consecutive patients. *J Am Coll Cardiol* 1994;23:586-590

73. Kececioglu D., Gehrman J., Mugler M., et al. Myokarditis simuliert akuten Myokardinfarkt im Säuglingsalter. *Herz/Kreisl* 1993;25:353-355
74. Keeling P.J., Gang Y., Smith G., et al. Familial dilated cardiomyopathy in the United Kingdom. *Br Heart J* 1995;73:417-421
75. Keren A., Popp R.L. Assignment of patients into the classification of cardiomyopathies. *Circulation* 1992;86:1622-1633
76. Kleinert S. Weintraub R.G., Wilkinson J.L., Chow C.W. Myocarditis in children with dilated cardiomyopathy: incidence and outcome after dual Therapy immunosuppression. *J Heart Lung Transplant* 1997;16:1248-1254
77. Klingel K., Kandolf R., et al. Endomyokardbiopsie- Bedeutung für die Diagnose von Kardiomyopathien im Kindesalter *Monatsschrift Kinderheilkd* 2004;152:611-619
78. Klingel K., Hohenadl C., Canu A., et al. Ongoing enterovirus-myocarditis is associated with persistent heart muscle infection: quantitative analysis of virus replication, tissue damage, and inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:314-318
79. Klingel K., Selnika H.C., Sauter M., et al. Molecular mechanism in enterovirus- and parvovirus B19-associated myocarditis and inflammatory cardiomyopathy. *Europ Heart J* 2002;4/1:8-12
80. Kodama M., Hanawa H., Zhang S., et al. FK 506 therapy of experimental autoimmune myocarditis after onset of the disease. *Am Heart J* 1993;126:1385-1392
81. Kodama M., Zhang S., Hanawa H., et al. Effects of 15-deoxyspergualin on experimental autoimmune giant cell myocarditis of the rat. *Circulation* 1995;91:1116-1122
82. Krajcinovic M., Pinamonti B., Sinagra G. et al. Linkage of familial dilated cardiomyopathy to chromosome 9. *Heart Muscle Disease Study Group. Am J Hum Genet* 1995;57:846-852
83. Kühl U., Daun B., Seeberg B., et al. Dilatative Kardiomyopathie – eine chronische Myokarditis? Immunhistologische Charakterisierung lymphozytärer Infiltrate. *Herz* 1992;17:96-106
84. Kühl U., Pauschinger M., Bock T., et al. Parvovirus B19 infection mimicking akute myocardial infarction. *Circulation* 2003;108:945-950
85. Kühl U., Strauer B.E., Schultheiss H. Methylprednisolone in chronic myocarditis. *Postgrad Med J* 1994;70(Suppl 1):35-42
86. Kyu B.S., Matsamori A., Sato Y., et al. Cardiac persistence of cardioviral RNA detected by polymerase chain reaction in a murine model of dilated cardiomyopathy. *Circulation* 1992;86:522-530

87. Latherburry L., Chandra R.S., Shapiro S.R., Perry L.L. Value of endomyocardial biopsy in infants, children and adolescents with dilated or hypertrophic cardiomyopathy and myocarditis. *Am J Coll Cardiol* 1988;12:1547-1554
88. Lauer B., Padberg K., Schultheiss H.P., et al. Autoantibodies against human ventricular myosin in sera of patients with acute and chronic myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 1994;23:146-153
89. Lauer B., Niederau C., Kühl U., et al. Cardiac Troponin T in patients with clinically suspected myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:1354-1359
90. Lee K.J., McCrindle B.W., Bohn D.J., et al. Clinical outcomes of acute myocarditis in childhood. *Heart* 1999;82:226-233
91. Lewis A.B., Neustein H.B., Takahasi M., Lurie P.R. Findings on endomyocardial biopsy in infants and children with dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1985;55:143-145
92. Lewis A.B., Chabot M. Outcome of infants and children with dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1991;68:365-369
93. Lewis A.B. Prognostic value of echocardiography in children with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am Heart J* 1994;128:133-136
94. Lewis A.B. Myocarditis. In: Emmanouilides G.C., Riemenschneider T.A., Allen H.D., et al, eds. *Moss and Adams' Heart Disease in Infants, Children and Adolescents*. Ed.5 Baltimore: Williams&Wilkins, 1995:1381-90
95. Liu P., Wang E.E.L., Sole M. Viral myocarditis: Changing concepts in pathogenesis and implications in diagnosis and treatment. *Cardiovasc Pathol* 1993;2:247-257
96. Lurie P.R. Endocardial fibroelastosis is not a disease. (Editorial). *Am J Cardiol* 1988;62:468-470
97. Magnani J.W., Dec J.W. Myocarditis: current trends in diagnosis and treatment. *Circulation* 2006;113:876-890
98. Maisch B., Trostel-Soeder R., Stechemesser E., et al. Diagnostic relevance of humoral and cell-mediated immune reactions in patients with acute viral myocarditis. *Clin Exp Immunol* 1982;48:533-545
99. Maisch B. Einteilung der Kardiomyopathien nach der WHO/ISFC Task force-Mehr Fragen als Antworten? *Med Klin* 1998;93:199-209
100. Maisch B. Immunologic regulator and effector functions in perimyocarditis, postmyocarditic heart muscle disease and dilated cardiomyopathy. *Basic Res Cardiol* 1986;1:217-242
101. Maisch B., Bauer, Cirsi M., Kochsiek K. Cytolytic crossreactive antibodies directed against the cardiac membrane and viral proteins in Coxsackievirus B3

- and B4 myocarditis. Characterization and pathogenetic relevance. *Circulation* 1993;87:Suppl IV:IV-49-65
102. Maisch B., Factor S., Gröne F. et al. Report of the 1997 World Health Organisation and International Society and Federation of Cardiology Expert Committee on the definition of inflammatory cardiomyopathy (myocarditis) (submitted)
 103. Maisch B., Aepinius C., Aitken K. et al. Report of the 1997 World Health Organisation and International Society and Federation of Cardiology Expert Committee on the definition of inflammatory cardiomyopathy (myocarditis) (submitted)
 104. Maisch B., Schönian U., Crombach M., et al. Cytomegalovirus associated inflammatory heart muscle disease. *Scand J Infect Dis* 1993;Suppl 88:135-148
 105. Mall G. Morphologie der Myokarditis. *Internist (Berlin)* 1995;36:426-429
 106. Maron B.J., Spirito P., Wesley Y, et al. Development and progression of left ventricular hypertrophy in children with hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1986;315:610-614
 107. Maron B.J., Towbin J.A., Thiene G. et al. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies : An American Heart Association scientific statement from the council on clinical cardiology, heart failure and transplantation committee ; quality of care and outcome research and functional genomics and translational biology interdisciplinary working groups ; and council on epidemiology and prevention. *Circulation* 2006 ;113 ;1807-1816
 108. Martin A.B., Webber S., Fricker F.J. et al. Acute myocarditis: rapid diagnosis by PCR in children. *Circulation* 1994;90:330-339
 109. Martino T.A., Liu P., Sole M.J. Viral infection and the pathogenesis of dilated cardiomyopathy. *Circ Res* 1994;74:182-188
 110. Mason J.W. Classification of cardiomyopathies. In: Fuster V., Alexander R.W., O'Rourke R.A., eds. *Hurst's the Heart, Arteries and Veins*. 10th ed. New York, NY: McGraw Hill; 2001:1941-1946
 111. Mason J.W., O'Connell J.B., Herskowitz A., et al. The Myokarditis Treatment Trial Investigators. A clinical trial of immunosuppressive therapy for myokarditis. *N Engl J Med* 1995;333:269-275
 112. Matitiau A., Perez-Atayde A., Sanders S.P. et al. Infantile dilated cardiomyopathy. *Circulation* 1994 ;90 :1310-1318
 113. Matsumori A., Matoba J., Sasayama S. Dilated cardiomyopathy associates with hepatitis C infection. *Circulation* 1995;92:2519-2525
 114. McCarthy III R.E., Boehmer J.P., Hruban R.H., et al. Long-term outcome of fulminant myocarditis as compared with acute (nonfulminant) myocarditis. *N Engl J Med* 2000;342:690-695

115. McManus B.M., Kandolf R. Evolving concepts of cause, consequence, and control in myocarditis. *Curr Opin Cardiol* 1991;16:418-427
116. McManus B.M., Kandolf R. Myocarditis. In: McManus B.M., Braunwald E. (eds) *Atlas of cardiovascular pathology for the clinician*. Current medicine, Philadelphia, 2001 pp 169-183
117. Melnick J.L. Enteroviruses. In: Evans A.F., ed. *Viral infections of humans*. New York : Plenum Press, 1989;191:191-263
118. Mestroni L., Krajcinovic M., Severini G.M., et al. Familial dilated cardiomyopathy. *Br Heart J* 1994;72:35-41
119. Mestroni L., Rocco C., Gregori D., et al. Familial dilated cardiomyopathy: evidence for genetic and phenotypic heterogeneity. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:181-190
120. Miric M., Miskovic A., Birkic S., et al. Long-term follow-up of patients with myocarditis and idiopathic dilated cardiomyopathy after immunomodulatory therapy. *FEMS Immun Med Microbiol* 1994;10:65-74
121. Morrow W.R. Cardiomyopathy and heart transplantation in children. *Curr Opin Cardiol* 2000;15:216-223
122. Moss and Adams' *Heart Disease in Infants, Children and Adolescents*, Ed.5 Baltimore: Williams&Wilkins, 1995:1337-1381
123. Munro K., Croxson M.C., Thomas S., et al. Three cases of myocarditis in childhood associated with parvovirus (B19 Virus). *Pediatr Cardiol* 2003 DOI 10.1007/s00246-002-0173-9
124. Nakagawa M., Sato A., Okagawa H., et al. Detection and evaluation of asymptomatic myocarditis in schoolchildren: report of four cases. *Chest* 1999;116:340-345
125. Ni J., Boweles N.E., Kim Y.H., et al. Viral infection of the myocardium in endocardial fibroelastosis. Molecular evidence for the role of mumps virus as an etiologic agent. *Circulation* 1997;95:133-139
126. Nishio R., Matsumori A., Shioi T., et al. Treatment of experimental viral myocarditis with interleukin-10. *Circulation* 1999;100:1102-1108
127. Nugent A.W., Davis A.W., Kleinert S. et al. Clinical, electrocardiographic, and histologic correlations in children with dilated cardiomyopathy. *J Heart Lung Transplant* 2001;20:1152-1157
128. Olsen E.G.J. The pathogenesis of dilated cardiomyopathy. *Postgrad Med J* 1992;68(Suppl1):7-10
129. Pankuweit S., Portig I., Lottspeich F., Maisch B. Autoantibodies in sera of patients with myocarditis: characterization of the corresponding proteins by

- isoelectric focusing and n-terminal sequence analysis. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:77-84
130. Pauschinger M., Kühl U., Dörner A., et al. Nachweis enteroviraler RNA in endomyokardialen Biopsien bei inflammatorischer Kardiomyopathie und idiopathischer dilatativer Kardiomyopathie. *Z Kardiol* 1998;87:443-452
131. Pauschinger M., Doerner A., Kuehl U., et al. Enteroviral RNA replication in the myocardium of patients with left ventricular dysfunction and clinically suspected myocarditis. *Circulation* 1999;99:889-895
132. Pohlner K., Portig I., Pankuweit S., et al. Identification of mitochondrial antigens recognised by antibodies in sera of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy by two-dimensional gel electrophoresis and protein sequencing. *Am J Cardiol* 1997;80:1040-1045
133. Rajs J., Hammarquist F. Sudden infant death in Stockholm. A forensic pathology study covering ten years. *Acta Pediatr Scand* 1988;6:712-720
134. Rautenburg H.W. Klinik und Therapie entzündlicher Herzerkrankungen. In: H. Singer (Hrsg.): *Herzerkrankungen im Kindes- und Jugendalter*. Perimed Erlangen 1989;172-186
135. Richardson P., McKenna W., Bristow M. Et al. Reports of the 1995 WHO/ISFC on the definition and classification of cardiomyopathies. *Circulation* 1996;93:841-842
136. Report of the WHO/ISFC Task Force on the definition and classification of cardiomyopathies. *Br Heart J* 1980;44:672-673
137. Ruzyllo W., Bilinska Z.T., Gajewski W. Endomyocardial biopsy in children and adolescents. *Kardiol Pol* 1989;32:87-96
138. Saint-Martin J., Bonnaud E., Morinet F., Choulot J.J. A mensire acute Parvovirus myocarditis with fatal outcome. *Pediatric* 1991;46:597-599
139. Schmaltz A.A., Apitz J., Hort W. Endomyocardial biopsy in children: technique, indications and results. *Eur J Pediatr* 1982;138:211-215
140. Schmaltz A.A., Apitz J., Hort W. Dilated cardiomyopathy in childhood: problems of diagnosis and long-term follow-up. *Eur Heart J* 1987;8:100-105
141. Schmaltz A.A., Demel K.P., Kallenberg R. et al. Immunosuppressive therapy of chronic myocarditis in children: three cases and the design of a randomized prospective trial of therapy. *Pediatr Cardiol* 1998;19:235-239
142. Schmaltz A.A. Dilatative Kardiomyopathie im Kindesalter. *Z Kardiol* 2001;90:263-268
143. Schmaltz A. A. Inflammatorische Kardiomyopathie-chronische Myokarditis: Neue Aspekte zur Pathogenese, Diagnostik und Therapie. *Monatsschrift Kinderheilkd* 2004;152:632-638

144. Schmalz A.A., Kandolf R. Myokarditis im Kindesalter- Forschungsergebnisse einer Dekade. *Klin Pädiatr* 2001;213:1-7
145. Schönian U., Crombach M., Maisch B. Assessment of cytomegalovirus DNA and protein expression in patients with myocarditis. *Clin Immun Immunopathol* 1993;68:229-233
146. Schowengerdt K.O., Ni J., Denfield S.W., et al. Diagnosis, surveillance, and epidemiologic evaluation of viral infections in pediatric cardiac transplant recipients with the use of the polymerase chain reaction. *J Heart Lung Transplant* 1996;15:111-123
147. Schowengerdt K.O., Ni J., Denfield S.W., et al. Association of Parvovirus B19 genome in children with myocarditis and cardiac allograft rejection: diagnosis using the polymerase chain reaction. *Circulation* 1997;96:3549-3554
148. Schultheiss H.P. Die dilatative Kardiomyopathie – eine chronische Myokarditis? Neue Aspekte zur Diagnose und Therapie. *Z Kardiol* 1993;82(Suppl 4):25-33
149. Schultheiss H.P. Disturbance of the myocardial energy metabolism in dilated cardiomyopathy due to autoimmunological mechanism. *Circulation* 1993;87:IV-43-48
150. Schwartz M.L., Cox G.F., Lin A.E., et al. Clinical approach to genetic cardiomyopathy in children. *Curr Persp* 1996;94:2021-2038
151. Scott C., Burch M., Celemajer D.S., Deanfield J.E. Idiopathic dilated cardiomyopathy in children: who should be transplanted and when? *Circulation* 1991 84(Suppl II):II-660
152. Sekarski N., Günthard J. Diagnose und Therapie von Kardiomyopathien im Kindesalter. *Ther Umschau* 2001;58:80-86
153. Shah S.S., Hellenbrand W.E., Gallagher P.G. Atrial flutter complicating neonatal Coxsackie B2 myocarditis. *Pediatr Cardiol* 1998;19:185-186
154. Stiller B., Dähnert I., Wenig Y.G., et al. Children may survive severe myocarditis with prolonged use of biventricular assist devices. *Heart* 1999;82:237-240
155. Strauer B.E. Consensus-Konferenz Myokarditis – dilatative Kardiomyopathie. *Internist (Berlin)* 1995;36:484-502
156. Strauer B.E., Kandolf R. Mall G. et al. Myokarditis - Kardiomyopathie. *Med Klin* 2001;96:608-625
157. Taliercio C.P., Seward J.B., Driscoll D.J., et al. Idiopathic dilated cardiomyopathy in the young: clinical profile and natural history. *J Am Coll Cardiol* 1985;6:1126-1131

158. Thiene G., Angelini A., Basso C., et al. The new definition and classification of cardiomyopathies. *Adv Clin Path* 2000;4:53-57
159. Thiene G., Corrado D., Basso C. Cardiomyopathies: is it time for a molecular classification? *Eur Heart J* 2004;25:1772-1775
160. Tomioka N., Kishimoto C., Matsumori A., Kawai C.H. Effects of prednisolone on acute viral myocarditis in mice. *J Am Coll Cardiol* 1987;7:868-872
161. Torres F., Aguita M., Gimenez D., et al. Long-term clinical course of acute myocarditis. Prospective study of a series of 99 patients (1987-1995). *Rev Esp Cardiol* 1996;49:723-731
162. Towbin J.A., Hejtmancik J.F., Brink P. et al. X-linked dilated cardiomyopathy. Molecular genetic evidence of linkage to the Duchenne muscular dystrophy (dystrophin) gene at the Xp21 locus. *Circulation* 1993;87:1854-1865
163. Venugopalan P., Agarwal A.K., Akinbami F.O. et al. Improved prognosis of heart failure due to idiopathic dilated cardiomyopathy in children. *Int J Cardiol* 1998;65:125-128
164. Wallace D.C. Mitochondrial DNA mutations in diseases of energy metabolism. *J Bioenerg Biomembr* 1991;26:241-250
165. Webber S.A., Boyle G.J., Pickering R.M., et al. Role of right ventricular endomyocardial biopsy in infants and children with suspected or possible myocarditis. *Br Heart J* 1994;72:360-363
166. Wiles H.B., McArthur P.D., Taylor A.B., et al. Prognostic features of children with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1991;15:1372-1376
167. Woodruff J.F. Viral myocarditis: a review. *Am J Pathol* 1980;101:427-487
168. Wynne J., Braunwald E. The cardiomyopathies. In: Zipes D.P., Libby P., Bonow R.O., Braunwald E.D., eds. *Braunwald's Heart Disease*. 7th ed. Philadelphia, Pa: Elsevier Saunders; 2005:1659-1696
169. Yoshizato T., Edwards W.D., Alboliras E.T., et al. Safety and utility of endomyocardial biopsy in infants, children and adolescents: a review of 66 procedures in 53 patients. *J Am Coll Cardiol* 1990;15:436-442

Lebenslauf

29.12.1973	Christina-Oana Rab Geboren in Reschitz (Rumänien) geboren als erstes Kind von Dr. Johann Rab und Dr. Rodica Hauler, geb. Triff
1980 – 1985	Grundschule Temeschburg (Rumänien)
1985 – 1989	Gymnasium Temeschburg (Rumänien)
1989 – 1993	Isolde-Kurz Gymnasium Reutlingen
1993 – 1995	Ausbildung zur MTA Uniklinik Tübingen
1995 – 2002	Studium der Humanmedizin an der Eberhard-Karls Universität Tübingen
07.05.2002	3. Staatsexamen: Mai 2002
2002 – 2004	Arzt in Praktikum (AIP) Klinikum Stuttgart
2004 – 2007	Ausbildungsassistentin in der dermatologischen Praxis Dres. Meyer-Rogge in Karlsruhe
16.02.2007	Facharztprüfung Dermatologie und Venerologie
Seit 01.01.2008	Ärztin der Partnerschaft Dres. Meyer-Rogge und Rab In Karlsruhe