

Aus dem
Institut für Virologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. H. Hengel

VERTIKALE ÜBERTRAGUNG DES HUMANEN HERPESVIRUS TYP 8

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf

vorgelegt von

Kristina Schwamborn

2005

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. dent. Wolfgang H.-M. Raab
Dekan

Referent: Priv.-Doz. Dr. Adams

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Erhardt

Inhaltsverzeichnis:

1	EINLEITUNG	9
1.1	Die Familie der Herpesviren	9
1.1.1	Einteilung der Herpesviren	9
1.1.2	Morphologie der Herpesviren	10
1.1.3	Persistenz im Organismus	11
1.1.4	Replikation der Herpesviren	12
1.2	Das Humane Herpesvirus Typ 8 (HHV-8)	13
1.2.1	Geschichte	13
1.2.2	Morphologie des HHV-8 und HHV-8 Subtypen	13
1.2.3	Pathogenese des HHV-8	14
1.2.4	Seroepidemiologie und Übertragungswege des HHV-8	17
1.2.5	HHV-8 assoziierte Erkrankungen	20
1.3	Das Zytomegalievirus (CMV)	25
1.3.1	Krankheitsbilder	26
1.3.2	CMV in der Schwangerschaft	26
1.4	HIV und AIDS	28
1.4.1	Geschichte	28
1.4.2	Morphologie des HIV-1	29
1.4.3	Pathogenese und Replikation des HIV-1	30
1.4.4	Klinik und Stadieneinteilung	32
1.4.5	HIV-Erkrankung und HHV-8	34
1.5	Zielsetzung der Arbeit	36
2	MATERIAL UND METHODEN	37
2.1	Zellkultur und Stimulationsversuch	37
2.2	Herstellung von Objektträgern	37
2.3	Immunfluoreszenztest	38
2.4	Virus-DNA-Isolierung	38
2.4.1	High Pure Viral Nucleic Acid Kit®	38
2.4.2	DNA-Extraktion nach Boom	39
2.4.3	DNA-Extraktion aus PCR-Produkten	41
2.5	Polymerasekettenreaktion (PCR)	41

2.5.1	HHV-8-PCR.....	41
2.5.2	β -actin PCR.....	42
2.6	Southern-Blot	43
2.7	Nested-PCR	47
2.8	Real-time-PCR	48
2.8.1	Prinzip der Real-time TaqMan™ PCR	48
2.8.2	Materialien und Durchführung.....	50
2.9	Herstellung von rekombinanten HHV-8-kodierenden Plasmiden	52
2.9.1	Ligation.....	52
2.9.2	Transfektion.....	55
2.9.3	Mini-Präparation von Plasmid-DNA	55
2.9.4	Maxi-Präparation von Plasmid-DNA.....	56
3	RESULTATE.....	58
3.1	Stimulationsversuch und Immunfluoreszenztest	58
3.2	β-actin-PCR	60
3.3	Nested-PCR	61
3.3.1	Empfindlichkeit der nested-PCR.....	61
3.3.2	Ergebnis der nested-PCR	61
3.4	Real-time-PCR	62
3.5	Southern Blot	63
3.6	Seroprävalenz des HHV-8 in den untersuchten Kollektiven	64
3.6.1	Seroprävalenz des HHV-8 bei Müttern und Kindern.....	64
3.6.2	Seroprävalenz des HHV-8 in der Kontrollgruppe.....	66
4	DISKUSSION	69
4.1	Vertikale versus horizontale Übertragung von HHV-8	69
4.2	Seroprävalenzen des HHV-8 in den verschiedenen Populationen im Vergleich	72
4.2.1	Seroprävalenz des HHV-8 bei Neugeborenen und Kindern.....	73
4.2.2	Seroprävalenz des HHV-8 bei Frauen.....	75
4.2.3	Seroprävalenz des HHV-8 bei HIV-positiven Personen	76
4.2.4	Seroprävalenzen des HHV-8 in anderen Bevölkerungsgruppen	77

4.3	HHV-8 und CMV in der Schwangerschaft	78
4.4	HHV-8 und AIDS	79
5	ZUSAMMENFASSUNG	81
6	LITERATUR	83
7	DANKSAGUNG	95
8	PUBLIKATIONEN	96
9	LEBENS LAUF	97

Liste der verwendeten Abkürzungen:

Abb.	Abbildung
Ac	Acetat
AIDS-KS	HIV-assoziiertes Kaposi-Sarkom
AKS	Afrikanisches Kaposi-Sarkom
Amp	Ampicillin
ARC	AIDS Related Complex
Bam HI	Restriction Endonuclease (Bacillus amyloliquefaciens H)
BCBL	Body cavity-based lymphoma
Bcl-2	B-cell leukemia-/lymphoma-2
BCIP	5-bromo-4-chloro-3-indoloyl-phospahte p-toluidine salt
BSA	Rinderserum-Albumin
c-	zellulär
CA	Kapsid-Protein
CCR	Chemokin-Rezeptor
CD	cluster of differentiation
CDC	Centers for Disease Control
CDK	Cyklin-abhängige Kinase (cyclin-dependent kinase)
CDR	complementarity-determining region
CKS	Klassisches Kaposi-Sarkom
CMV	Zytomegalievirus
CT	treshold cycle
CXCR	C-X-C Chemokine receptor
DMEM	Dulbecco's modified Eagle's Medium
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DNase	Desoxyribonuclease
dNTP	Desoxynukleotid-Triphosphat
DTT	Dithiothreitol
EBV	Epstein-Barr-Virus
Eco RI	Restriction Endonuclease (Escheria coli BS 5)
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure x Na ₂ -Salz
E-KSC	von den Endothelzellen abstammende Kaposi sarcoma spindle cells
ELISA	enzyme linked immuno sorbent assay
EP	externes Glykoprotein des HIV (gp 120)
ER	Endoplasmatisches Retikulum
FADD	Fas-associated death domain
FAM	6-Carboxy-Fluorescein
FITC	Fluorescein-Isothiocyanat
FKS	Fötales Kälberserum
FLICE	FADD-like interleukin 1 β converting enzyme
FLIP	FLICE inhibitory protein
Gag	group (specific) antigen
gp	Glykoprotein
GPCR	G-protein-coupled receptor

HHV-6	Humanes Herpesvirus Typ 6
HHV-7	Humanes Herpesvirus Typ 7
HHV-8	Humanes Herpesvirus Typ 8
HIV-1	Humanes Immundefizienz Virus Typ 1
HSV 1	Herpes-simplex-Virus Typ 1
HSV 2	Herpes-simplex-Virus Typ 2
HTLV-1	Humanes T-Zell-Leukämievirus
HVS	Herpesvirus saimiri
ICAM-1	intercellular adhesion molecule 1
IFA (IFT)	Immunfluoreszenztest
IFN	Interferon
IFR	Interferon-resistant
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IL	Interleukin
IN	Integrase (HIV)
IRF	Interferon regulatory factor
ISRE	Interferon stimulated response element
IVD	intravenous drug addict
KDR	VEGF-Rezeptor
KS	Kaposi-Sarkom
KSC	Kaposi sarcoma spindle cells
KSHV	Kaposi-Sarkom-assoziiertes Herpesvirus
LAMP	latentes Membranprotein (HHV-8)
LANA/LAN	latency-associated nuclear antigen/latent nuclear antigen (HHV-8)
LAS	Lymphadenopathie-Syndrom
LB-Medium	Luria Broth Base Medium
LI	Link-Protein (HIV)
LTR	long terminal repeat
MA	Matrixproteine (HIV)
MAC	Mycobakterium-avium-Komplex
MCP-1	monocyte chemoattractant protein 1
MHC	major histocompatibility complex
MIP	macrophage inflammatory protein
M-KSC	von Makrophagen abstammende Kaposi sarcoma spindle cells
mRNA	Messenger RNA
MW	Molekulargewicht
NBT	p-nitro blue tetrazolium chloride
NC	Nukleokapsid-Protein
NK	Natürliche Killerzellen
ORF	Offener Leserahmen (open reading frame)
OriP	Replikationsursprung (origin of replication) im latenten Zyklus
P53	Tumorsuppressorgen
PBL	periphere Blutlymphozyten
PBS	phosphat buffered saline

PCR	Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction)
PE	Phorbol-Ester
PEL	Primäres Effusionslymphom
pH	$-\log [H^+]$
Pol	Proteine mit enzymatischen Aktivitäten
PR	Protease (des HIV)
pRb	Retinoblastomprotein
PT-KS	Kaposi-Sarkom bei iatrogenen Immunsuppression
Rev	HIV-1 Protein rev (regulator of virion protein expression)
Rev	Gen für das HIV-1 Protein Rev
RGD	Arginin-Glycin-Asparaginsäure
RIPA	Radioimmunopräzipitation
RNA	Ribonukleinsäure
RNase	Ribonuklease
RNP	Ribonucleoprotein
RPMI	Standard-Kulturmedium (vom Roswell Parle Memorial Institute entwickelt)
RRE	Rev responsive element
RT	Reverse Transkriptase
SDS	Sodium dodecylsulfate
SEVAG	Chloroform-Isoamylalkohol 25:1
SH2	Src homology region 2
Src	Steroid-Rezeptor-Koaktivator
ss	einzelsträngig (single stranded)
SSC	standard sodium/saline citrate
STD	sexual transmitted diseases
Tab.	Tabelle
TAMRA	6-Carboxy-tetramethyl-rhodamin
Taq pol.	Taq Polymerase
TAR	Transactivation response
Tat	transactivator of transcription
TBE	Tris-Borat mit EDTA
TE (-Puffer)	Tris-EDTA(-Puffer)
TNF	Tumornekrosefaktor
TP	transmembranes Protein des HIV (gp 41)
TRAF	TNF receptor associated factor
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
UV	ultraviolett
v-	viral
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule 1
VEGF	vascular endothelial growth factor
vgl.	vergleiche
VZV	Varicella-Zoster-Virus
Wnt	Wingless-type

1 Einleitung

1.1 Die Familie der Herpesviren

1.1.1 Einteilung der Herpesviren

Bei Mensch und Tier sind die Mitglieder der Familie der Herpesviren weit verbreitet. Nach ihrer Pathogenität, ihrem Tropismus und ihren Vermehrungseigenschaften werden sie in Alpha-, Beta- und Gamma-Herpesviren eingeteilt (Tab. 1) [95].

Unterfamilie	Genus	Mensch	Tier
Alpha-Herpesviren	Simplexvirus	Herpes-simplex-Virus Typ 1 (HSV 1) Herpes-simples-Virus Typ 2 (HSV 2)	Mammilitisvirus des Rindes (BHV2) cercopithecine Herpesvirus 1 (Herpes-B-Virus)
	Varicellavirus	Humanes Herpesvirus Typ 3 = Varizella-Zoster-Virus (VZV)	Pseudorabiesvirus (SHV1) Infektiöses Rhinotracheitis-Virus (BHV1) Equiner Herpesvirus 1,4,3 (EHV1)
Beta-Herpesviren	Zytomegalievirus	Humanes Herpesvirus Typ 5 = Humanes Zytomegalievirus (CMV)	bovines Zytomegalievirus (BHV4) felines Zytomegalievirus (FHV2)
	Muromegalievirus		Maus-Zytomegalievirus (MHV1)
	Roseolovirus	Humanes Herpesvirus Typ 6 (HHV-6) Humanes Herpesvirus Typ 7 (HHV-7)	Herpesvirus aotus Typ 1 + 3, Einschlußkörperchenrhinitis, Schwein (SHV2)
Gamma-Herpesviren	Lymphocryptovirus	Humanes Herpesvirus Typ 4 = Epstein-Barr-Virus (EBV)	Bovines Herpesvirus 3, BKF Pavian-Herpesvirus, Schimpansen-Herpesvirus
	Rhadinovirus	Humanes Herpesvirus Typ 8 (HHV-8)	Herpesvirus ateles, Herpesvirus saimiri (HVS)

Tab. 1: Einteilung der Herpesviren [modifiziert nach [102]]

Die Alpha-Herpesviren weisen ein breites Wirtsspektrum und in vitro einen kurzen Vermehrungszyklus auf. Hingegen zeichnen sich die Beta-Herpesviren durch ein enges Wirtsspektrum und lange Replikationszyklen aus. Bei den Gamma-Herpesviren finden sich ein sehr enges Wirtsspektrum und unterschiedliche Vermehrungszyklen.

1.1.2 Morphologie der Herpesviren

Die Herpesviren weisen ein großes Genom (120 – 230 kb) aus einer einzelnen linearen doppelsträngigen DNA auf, die mit dem Virus-Core, einer fibrillären Proteinmatrix, assoziiert ist. Umschlossen werden DNA und Core von einem ikosaedrischen Kapsid, das einen Durchmesser von 100 nm aufweist. Dieses Kapsid setzt sich aus 162 Kapsomeren zusammen, die über Disulfidbrücken mit anderen, an der Innenseite der Kapsomere lokalisierten Virusproteinen verbunden sind. Durch diese Virusproteine besteht eine Verbindung zur DNA. Zudem besitzen die Herpesviren eine Hülle, die sich aus der inneren Kernmembran der jeweiligen Wirtszelle (der infizierten Zelle) ableitet. Je nach Zell- oder Virusart werden jedoch eine kleinere oder größere Anzahl von Viren erst im Zytoplasma, an der Zellmembran oder gar nicht umhüllt. Neben den zellkodierten Proteinen finden sich auch virale Proteine in der Hülle. Diese stellen sich zum Teil in Form von Proteinvorsprüngen („Spikes“) an der Virusoberfläche dar. Sie spielen bei der Absorption an Zellrezeptoren, bei der Penetration und Aufnahme in die Zelle, aber auch als Auslöser und Ziel der Antikörperantwort eine wichtige Rolle. Zwischen Kapsid und Hülle befindet sich das sogenannte Tegument, eine unstrukturierte Proteinmatrix, welche von variabler Größe ist und somit den Virendurchmesser (ca. 200 nm) beeinflusst [12,102]. Abb. 1 zeigt die schematische Darstellung eines Herpesvirus.

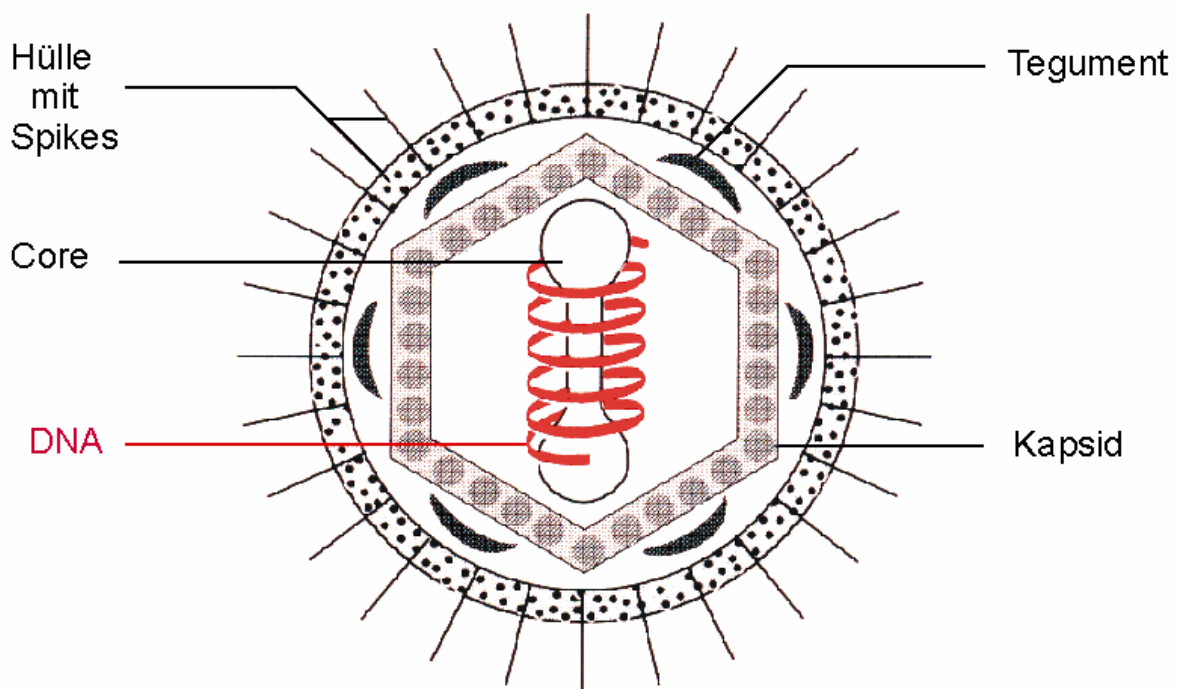


Abb. 1: Schematische Darstellung eines Herpesvirus: Protein-Core und DNA, die miteinander in Wechselwirkung stehen, bilden das Innere des Virus. Umschlossen werden beide von einem ikosaedrischen Kapsid. Die Hülle leitet sich von der inneren Kernmembran ab und weist auch virale Proteine (Spikes) auf. Der Raum zwischen Kapsid und Hülle wird durch das Tegument, das eine Reihe von Proteinen enthält, ausgefüllt. [42]

1.1.3 Persistenz im Organismus

Gemeinsam ist allen Herpesviren eine hohe Durchseuchungsrate von 60 – 90 % und die Fähigkeit, in unterschiedlichen Zellen über einen langen Zeitraum, bzw. lebenslang zu persistieren (Tab. 2) [12]. Lediglich das HSV 2 und das HHV 8 zeigen hinsichtlich ihrer Durchseuchungsrate keine ubiquitäre Verteilung [67]. Abhängig vom jeweilig infizierten Zelltyp und von physiologischen Parametern existieren zwei verschiedene Infektionsmodi: latente und lytische Infektion [12,130]. Die lytische Infektion ist durch Virusreplikation und Freisetzung der Virusnachkommenschaft charakterisiert. Die latente Infektion zeichnet sich durch eine ausgeprägte Restriktion der viralen Genexpression aus. Die Virus-DNA findet sich im Zustand der Latenz als extrachromosomales Episom im Nukleoplasma der Wirtszelle (Tab. 2). Es findet zwar mit Hilfe der zellulären DNA-Polymerase die Replikation der Virus-DNA statt, aber die Entstehung infektiöser Viren unterbleibt. Dabei ist noch unbekannt, welche Mechanismen auf molekularer Ebene die Latenz steuern und welche zur Reaktivierung und Einleitung des lytischen Zellzyklus führen [12,71,102,168].

Virus	Zielzellen der Latenz
HSV 1 und 2	Ganglienzellen
VZV	Ganglienzellen
CMV	Lympho- / Granulozyten
EBV	B-Lymphozyten
HHV-6	T-Lymphozyten
HHV-7	T-Lymphozyten
HHV-8	B-Lympho- / Monozyten

Tab. 2: Zielzellen der Latenz bei den verschiedenen Herpesviren

Häufig kommt es bei einer Infektion mit Herpesviren zu einem subklinischen Krankheitsverlauf. Reaktivierungen der Infektion, sowohl klinischer als auch subklinischer Art, sind keine Seltenheit. Psychischer Streß, Fieber, Traumen, Immunsuppression, andere Infektionen und Reize wie Sonnenbestrahlung werden als Auslöser diskutiert [12,102].

1.1.4 Replikation der Herpesviren

Die Infektion von Zellen durch Herpesviren kann auf zwei unterschiedliche Arten erfolgen. Zum einen ermöglichen bestimmte Oberflächenproteine eine Adhäsion an Rezeptoren der Zelloberfläche. Daraufhin kommt es zu einer Verschmelzung von Virushülle und Zellmembran, so daß die Virus-DNA, nun noch umhüllt von Kapsid und Tegument, in das Zytoplasma gelangt. Zum anderen besteht auch die Möglichkeit der Zellverschmelzung von infizierten und nicht infizierten Zellen. Auf diese Weise können die Herpesviren auch in Zellen eindringen, die keine entsprechenden Rezeptoren an ihrer Oberfläche aufweisen [102].

Ausgehend vom Zytoplasma der infizierten Zelle erreicht das Genom des Virus über den Transport entlang der Mikrotubuli den Zellkern, wo es zirkularisiert und im Nukleoplasma als Episom vorliegt. Auch die viralen Proteine, die über Signale für den Transport zum Kern verfügen, dringen durch die Kernporen in das Nukleoplasma ein [102].

Das Virusgenom wird in einem kaskadenartig regulierten Zyklus exprimiert. Zu Beginn erfolgt die Synthese der immediate early- oder alpha-Proteine. Sie stellen wichtige Regulationsenzyme u.a. für die Initiation der Replikation dar und werden von ca. 10 % des Genoms kodiert. Im Zellkern aktivieren sie die Promotoren der delayed early- oder beta-Proteine, zu denen Enzyme zur DNA-Synthese (Polymerase, Thymidin-Kinase etc.) und nukleinsäurebindende Polypeptide gehören. Ihr Anteil am Genom macht ca. 40 % aus. Die late- oder gamma-Proteine, die von ca. 43 % des Genoms kodiert werden, werden parallel zur DNA-Synthese gebildet. Zu ihnen zählen Glykoproteine, die zum einen in die innere Kernmembran eingelagert werden. Zum anderen werden sie in die Zytoplasmamembran eingebaut und stellen dort das Ziel der Immunantwort dar. Unter den late-Proteinen finden sich auch die Proteine für Kapsid und Tegument, die ins Nukleoplasma transportiert werden. Die Zusammensetzung der einzelnen Komponenten erfolgt im Zellkern. DNA-haltige Kapside assoziieren mit den Tegumentproteinen und werden von der inneren Kernmembran, in die die Glykoproteine eingebaut sind, umschlossen. Entlang des endoplasmatischen Retikulums und des Golgi-Apparates finden die Partikel ihren Weg zur Oberfläche der Zelle. Auf diesem Weg reifen die Partikel durch Modifikationen der Glykoproteine zu infektiösen Viren. An der Zytoplasmamembran werden die Viren entweder freigesetzt oder sie gelangen durch Zellfusion in eine Nachbarzelle. Die infizierten Zellen setzen auch sogenannte L-Partikel frei, die sich nur aus einer Hüllmembran und dem Tegument zusammensetzen und nicht infektiös sind [102].

1.2 Das Humane Herpesvirus Typ 8 (HHV-8)

1.2.1 Geschichte

Im Jahre 1872 beschrieb der ungarische Dermatologe Moritz Kaposi erstmalig ein idiopathisches multiples Pigmentsarkom der Haut bei älteren Menschen jüdischer Abstammung, von denen ein Patient zudem einen Befall der Lunge und des Gastrointestinaltraktes zeigte [155,156]. Zwanzig Jahre später wurde dieses Krankheitsbild nach seinem Erstbeschreiber Kaposi-Sarkom (KS) benannt. Chang et al. gelang es im Jahre 1994 mittels „representational difference analysis“, aus KS-Gewebe DNA-Sequenzen eines bis dahin unbekannten Virus zu isolieren, das sie als KS-assoziiertes Herpesvirus (KSHV) bezeichneten [31]. Die Analysen der Sequenzen ließen eine sichere Einordnung des Virus in die Familie der Herpesviren zu [131], genauer gesagt in die Unterfamilie der Gamma-Herpesviren Genus Rhadinovirus [104]. Bezogen auf die formale, numerische Bezeichnung der Herpesviren wurde das Virus Humanes Herpesvirus Typ 8 (HHV-8) benannt.

1.2.2 Morphologie des HHV-8 und HHV-8 Subtypen

Das Genom des HHV-8 weist eine Größe von etwa 170 kb auf [125]. Es setzt sich aus einer 140,5 kb großen long unique coding region (LUR) zusammen, die von multiplen G- und C-reichen, 801 bp langen terminal repeat- (TR-) Sequenzen flankiert wird [132]. Zwei Arten von Genen können unterschieden werden: Zum einen die in sieben Blöcken (blocks 1-7) angeordneten Gene, die Homologien mit anderen Herpesviren aufweisen und für Strukturproteine und Enzyme kodieren, zum anderen die zwischen den Blöcken liegenden Genregionen (interblock regions a-h) mit für HHV-8 oder für Rhadinoviren spezifischen ORFs [28,132]. Insgesamt sind mindestens 81 ORFs [132], nach neueren Erkenntnissen 90 ORFs [63] bekannt, wobei 66 Homologien zu ORFs des Herpesvirus saimiri (HVS, ein tierpathogenes Rhadinovirus, vgl. Tab. 1) aufweisen [132]. Ungewöhnlich, bezogen auf die anderen Herpesviren, ist die große Anzahl an Genen, die homolog zu humanen Genen sind: v-Cyclin, v-FLIP, vBcl-2, vIRF 1-4, vGPCR, vMIP I-III, vIL-6 (vgl. Tab. 3, Tab. 4). Die Nomenklatur der ORFs, die homolog zu HVS-Genen sind, basiert auf der HVS-Nomenklatur. Die ORFs ohne Homologie zu HVS-Genen sind mit dem Präfix K versehen und chronologisch numeriert (1-15)

[132], wobei neu entdeckte ORFs (K4.1, K4.2, K8.1, K10.1, K10.5, K10.7, K11.1 und K14.1) integriert wurden [63].

Das Genom des HHV-8 ist in der überwiegenden Mehrzahl der Abschnitte der LUR hochgradig konserviert, jedoch an beiden Enden des Genoms finden sich Gene, die in ihrer Sequenz beträchtlich variieren. Am rechten Ende des Genoms lassen sich basierend auf Sequenzunterschieden zwei verschiedene Varianten des ORF-K15, genannt P (predominant) und M (minor), unterscheiden, die insgesamt eine Übereinstimmung in ihrer Aminosäuresequenz von lediglich 33 % zeigen [117]. ORF-K15 kodiert für ein Membranprotein, LAMP (latency-associated membrane protein) (siehe Tab. 3) [71]. Auch das am linken Ende des Genoms lokalisierte ORF-K1, welches für ein Transmembranprotein mit Ähnlichkeit zur Immunglobulin-rezeptorfamilie kodiert (siehe Tab. 4), weist eine Variabilität von bis zu 40 % auf, die sich vor allem auf zwei hypervariable Regionen VR1 und VR2 konzentriert [34,164,170]. Basierend auf den Unterschieden in der Sequenz des ORF-K1 werden fünf verschiedene Subtypen (A-E), sowie innerhalb der Subtypen A, C und D weitere Varianten (A1-5, C1-5 und D1-2) des HHV-8 beschrieben. Dabei zeigen die einzelnen Subtypen deutliche geographische Präferenzen: In Europa, den USA und Australien finden sich Subtyp A und C, in Asien und im mittleren Osten Subtyp C, in Afrika Subtyp B sowie A5, Subtyp D findet sich bei Personen, die von den Pazifik-Inseln abstammen (inklusive Taiwan, Australien und Japan), und Subtyp E bei brasilianischen Amerindians [13,164,170].

1.2.3 Pathogenese des HHV-8

Über die Primärinfektion mit HHV-8 ist zur Zeit noch nicht viel bekannt. In der Literatur finden sich unterschiedliche Fallbeschreibungen über mögliche Erstmanifestationen der HHV-8-Infektion. So beschreiben Casper et al. ein vermehrtes Auftreten geschwollener Lymphknoten im Rahmen der Serokonversion [27]. Oksenhendler et al. konnten bei einem HIV-positiven Patienten zervikale Lymphadenopathie, Fieber, Arthralgie, Splenomegalie und Zytopenie im Zusammenhang mit der HHV-8-Erstinfektion feststellen [110]. Fieber, Thrombozytopenie und Splenomegalie traten im Zuge der Primärinfektion bei Transplantationspatienten auf [80]. Wie Wang et al. bei HIV-negativen Patienten zeigen konnten, induziert die Primärinfektion mit HHV-8 eine HHV-8-spezifische CD8-positive T-Zell-Antwort und löst unspezifische Symptome

wie Diarrhö, Lymphadenopathie, Abgeschlagenheit und umschriebenen Hautausschlag aus [159]. Andere Arbeitsgruppen beschreiben bei immunkompetenten Kindern aus Afrika das Auftreten von Fieber und makulopapulösem Hautausschlag sowie eine Serokonversion für HHV-8 [7] bzw. von Fieber und Symptomen einer Infektion des Respirationstraktes [64]. Die Zeit bis zum Auftreten weiterer Symptome bzw. zum Ausbruch der Erkrankung, der nur einen geringen Teil der Infizierten betrifft, hängt in erster Linie vom Immunstatus des Infizierten und nicht von der Länge der bestehenden Infektion ab [71].

Wie für alle Herpesviren charakteristisch, persistiert HHV-8 in der Mehrzahl der infizierten Zellen in latenter Form. Dort existiert es im Zellkern der Wirtszelle als geschlossene, zirkuläre episomale DNA [125]. Vor allem scheint das Virus in CD19-positiven B-Zellen zu persistieren [5]. Der latente Infektionszyklus betrifft auch die MCD- (pre-germinal centre b-cells) und PEL-Zellen (post-germinal centre b-cells) sowie die Spindelzellen des Kaposi-Sarkoms (endotheliale Vorläuferzellen). In Monozyten, Makrophagen und wahrscheinlich auch in den mononukleären Zellen des peripheren Blutes findet der lytische Infektionszyklus des HHV-8 statt [63]. Ausgelöst werden kann der lytische Infektionszyklus durch Chemikalien wie Phorbol-12-myristat-13-acetat und Butyrat [71].

Während der Viruslatenz werden nur wenige Gene transkribiert. Da somit nur eine minimale Anzahl an körperfremden Antigenen präsentiert wird, wird das Immunsystem des Wirts nicht aktiviert. In dieser Zeit ist das Virus abhängig von den zellulären Mechanismen der Replikation [71]. Eine Übersicht über die synthetisierten Proteine der Latenz gibt Tab. 3. Das latente Kernprotein LANA-1 (latency-associated nuclear antigen) bzw. LAN-1 (latent nuclear antigen) stellt das Protein dar, das bei weitem am häufigsten synthetisiert wird, [102] und ist ein zuverlässiger Marker für die Anwesenheit des Virus in den Zellen [71]. Es ist der Auslöser der sogenannten LANA-Fluoreszenz, eines gesprenkelten nukleären Färbungsmusters bei Immunfluoreszenztests mit nicht induzierten Zellen, d.h. Zellen mit latentem Infektionszyklus [102,156]. Dieses Muster ist auf die Tatsache zurückzuführen, daß LANA das Virusepisom durch Interaktion mit dem chromosomalen Bindungsprotein Histon H1 an das zelluläre Chromatin bindet [63,140,156]. Auf diese Weise wird der Verbleib des Virusgenoms in der Wirtszelle sowie die Übernahme des Virusgenoms in die Tochterzellen der Wirtszelle gewährleistet [41,102]. Von Bedeutung ist es auch für die Replikation des Virusepisoms, indem es sich an OriP bindet [102]. Je nach Umgebungsbedingungen ist LANA in der Lage, die Transkription sowohl zu unterbinden als auch zu aktivieren [63,140]. Zudem scheint LANA als virales Onkogen zu fungieren, in dem es eine Unterbindung der zellulären Apoptose durch die Bindung an p53 ermöglicht. Des weiteren kann es durch Interaktion mit pRb

(Retinoblastomprotein) den durch pRb induzierten Zellzyklusarrest aufheben [63]. Fujimuro et al. konnten zudem einen dritten Mechanismus aufzeigen, der ein vermehrtes Zellwachstum bedingt: die Wnt- β -Catenin-Signaltransduktionskaskade [44].

Zwei weitere Proteine der Viruslatenz, v-Cyclin und v-FLIP, sind ebenfalls in der Lage, in den Zellzyklus einzugreifen. So ist v-Cyclin (durch Komplexbildung mit CDK6) in der Lage, pRb zu phosphorylieren und dadurch den Eintritt der Zelle in die S-Phase zu fördern. Die Komplexbildung von v-Cyclin mit CDK6 ist insensitiv gegenüber den zellulären CDK-Inhibitoren. Das virale Protein v-FLIP wirkt anti-apoptotisch durch Inhibition der Fas/TNF-induzierten Apoptose und schützt infizierte Zellen vor dem Zelltod durch zytotoxische T-Lymphozyten [41,63].

Protein	ORF	Molekulargewicht (kD)	Funktion
LANA-1 / LAN-1	73	222 – 234	latentes Kernprotein; fördert die episomale Replikation; vermittelt die Interaktion des Virusgenoms mit den Chromosomen der Wirtszelle und gewährleistet seine Weitergabe bei der Zellteilung; inhibiert p53 und pRb
Kaposin A	K12	12	latentes Membranprotein; induziert die Aktivität verschiedener zellulärer Kinasen
LAMP	K15	35 – 60	latentes (?) Membranprotein; induziert Src-abhängige Phosphorylierung an Tyrosinresten und Anlagerung von TRAF1 – 3
v-Cyclin	72	ca. 30	Homolog zum zellulären Cyclin D2; bewirkt zusammen mit der cyclinabhängigen Kinase 6 die Phosphorylierung von Histone H1 und der Rb105/107-Proteine mit Freisetzung der E2F-Transaktivatoren; fördert Eintritt der Zellen in die S-Phase; resistent gegenüber zellulären CDK-Inhibitoren
v-FLIP	71		wirkt als FLICE-(Caspase-8)Inhibitor-Protein; inhibiert den Prozeß der Fas/TNF-induzierten Apoptose und schützt vor zytotoxischen T-Lymphozyten

Tab. 3: Übersicht über die Proteine der Viruslatenz, deren ORF, Molekulargewicht und Funktion (modifiziert nach[41,63,71,102])

Nach der Induktion des lytischen Infektionszyklus werden eine Vielzahl weiterer Proteine exprimiert. Eine Übersicht über die Proteine des lytischen Infektionszyklus gibt Tab. 4. Aber auch LANA wird weiterhin exprimiert. Das virale Protein vBcl-2 inhibiert die Bax-vermittelte und virusinduzierte Apoptose durch Heterodimerbildung mit humanem Bcl-2 (c-Bcl-2)

[63,155,156]. Andere Proteine (vIL-6, vMIPs) sind homolog zu zellulären Zytokinen und können ebenso wie der vGPCR über Änderungen der Signaltransduktionen infizierter Zellen zu einer Dysregulation des Zellzyklus führen [155].

Protein	ORF	Molekulargewicht (kD)	Funktion
vIL-6	K2	ca. 20	Homolog zum zellulären Cytokin IL-6 (c-IL-6); wird von den Zellen sezerniert; bindet sich an die β -Untereinheit des IL-6-Rezeptors und stimuliert die Proliferation von Plasmazellen
vIRFs vIRF-1 vIRF-2 vIRF-3 vIRF-4	K9 K11/K11.1 K10.5/K10.7 K10/K10.1	ca. 20 – 73	Homologe zu den zellulären IRF-Proteinen (c-IRFs); unterbinden deren Interaktionen mit den ISRE-Promotorelementen und die Expression der von diesen kontrollierten Gene; blockieren die IFN- und IFR-vermittelte Aktivierung der Transkription
vBcl-2	16		60% Homologie zu Bcl-2 und Bax; inhibiert die Bax-vermittelte und die virusinduzierte Apoptose
vGPCR	74		Homolog zu IL-8 Rezeptor CXCR1 und CXCR2; bindet IL-8; onkogen
vMIPs vMIP-I vMIP-II vMIP-III	K6 K4 K4.1		Chemokine mit angiogenen Eigenschaften CCR-8 Agonist CCR-3 Agonist CCR-4 Agonist
K1	K1	46	Transmembranprotein; aggregiert zu Dimeren und induziert über die Src-abhängige Phosphorylierung von Tyrosinresten die Interaktion von SH2-domänhaltigen Proteinen und die Zellaktivierung; onkogen
K3	K3		Downregulierung von MHC Klasse I
K5	K5		Downregulierung von MHC Klasse I und Rezeptoren der Natürlichen Killerzellen (NK) (unterbindet dadurch die Zellyse durch NK)

Tab. 4: Übersicht über die Proteine des lytischen Infektionszyklus, deren ORF, Molekulargewicht und Funktion (modifiziert nach [63,102,132,156])

1.2.4 Seroepidemiologie und Übertragungswege des HHV-8

Das HHV-8 zeigt eine interessante geographische Verteilung in Bezug auf die Seroprävalenzraten mit auffallend hohen Seroprävalenzraten (30 – 60 %) in afrikanischen

Ländern, die südlich der Sahara liegen, sowie Ägypten und mittleren Seroprävalenzraten (5 – 35 %) in Italien (mit zum Teil deutlichen regionalen Unterschieden), Griechenland und Israel. Hingegen sind die Seroprävalenzraten der Normalbevölkerung in Ländern wie den USA, Großbritannien, Deutschland, Dänemark, Frankreich und den Niederlanden mit bis zu maximal 3 – 5 % deutlich niedriger [139].

Die Übertragungswege des HHV-8 werden basierend auf dem heutigen Stand der Forschung zum Teil noch kontrovers diskutiert. Einigkeit herrscht bezüglich der sexuellen Übertragung unter homosexuellen Männern, einer Bevölkerungsgruppe mit einer hohen HHV-8-Seroprävalenz (siehe auch Abschnitt 4.4) [16,27,39,90,96]. Dabei werden verschiedene Risikofaktoren postuliert: höheres Lebensalter [39], längerer Zeitraum der aktiven Homosexualität [96,109], große Anzahl an wechselnden Sexualpartnern [27,90,109], HIV-positive Sexualpartner [27], eigener HIV-Serostatus [39,90,96], Vorhandensein anderer sexuell übertragbarer Krankheiten (sexual transmitted diseases (STD)) wie Syphilis, Gonorrhoe, HSV-2 [27,109], Einnahme von Amylnitrit [27] und bestimmte sexuelle Praktiken wie Anogenitalverkehr [88,96,109] und Orogenitalverkehr [39].

In Bezug auf die sexuelle Übertragung unter Heterosexuellen erscheinen die Ergebnisse kontrovers bzw. nicht eindeutig [66,148], vor allem der Infektionsweg bei Frauen ist noch nicht genau bekannt. Einige Arbeitsgruppen konnten zeigen, daß Frauen, die sexuellen Kontakt mit HIV-positiven bisexuellen Männern unterhalten, ein höheres Risiko haben, KS zu entwickeln, als Frauen, die sexuellen Kontakt mit HIV-positiven intravenösen Drogenabhängigen unterhalten [10,11]. Ebenso wird eine parenterale Übertragung durch Blut und Blutprodukte kontrovers gesehen [40,90,129]. Cannon et al. beschreiben sowohl die Möglichkeit der blutgebundenen Übertragung des HHV-8 bei intravenös drogenabhängigen Frauen (durch das gemeinsame Benutzen von Nadeln) als auch die der heterosexuellen Übertragung in Zusammenhang mit Risikofaktoren wie Seropositivität für Syphilis und kommerziellem Sex [26]. Eine Übertragung des Virus im Rahmen von Bluttransfusionen mit Blut HHV-8-positiver Spender konnten Engels et al. jedoch nicht nachweisen [40]. Im Zusammenhang mit dem fehlenden Nachweis für die Übertragung des HHV-8 im Rahmen von Bluttransfusionen sind aber vor allem zwei Überlegungen von Bedeutung: Zum einen zeigen Blutspender im Regelfall keine Virämie [14,161], zum anderen werden bei Transfusionen keine (CD19-positiven) B-Lymphozyten übertragen, die überwiegend die Viren beherbergen [14,97].

Die Übertragung von HHV-8 im Rahmen von Organtransplantationen wird ebenfalls beschrieben [79,79,80,99,108,123], wobei das Risiko für den Empfänger, sich über eine

Transplantatnieren eines HHV-8-positiven Spenders mit dem Virus zu infizieren, zwischen 2 % - 12 % liegt [99,123]. Die Übertragung von HHV-8 auch über andere Organe wird angenommen, jedoch finden sich in der Literatur zum jetzigen Zeitpunkt nur wenige Beweise, wie zum Beispiel bezogen auf die Lebertransplantation [87].

Der Nachweis von HHV-8-DNA in Speichel und nasalen Sekreten [15,25,72,78,113,157] legt zudem die Vermutung nahe, daß das Virus auch auf diesem Wege übertragen werden kann. Durch den Nachweis von virusspezifischer RNA im Speichel könnte sogar davon ausgegangen werden, daß ähnlich wie bei dem nächsten humanpathogenen Verwandten des HHV-8, dem EBV, die Epithelzellen des Oropharynx die Quelle für das Virus im Speichel darstellen und Ort des lytischen Replikationszyklus sind [72,113,157] oder B-Lymphozyten aus der Tonsilla lingualis oder Tonsilla palatina [72].

Bezogen auf den Nachweis von HHV-8-DNA im Ejakulat finden sich in der Literatur widersprüchliche Daten. So konnten Monini et al. in 91 % der Ejakulate von Patienten, die sich einer Varikozelenoperation unterzogen, HHV-8-DNA nachweisen [103]. Andere Arbeitsgruppen waren jedoch nicht in der Lage, das Virus im Ejakulat von Patienten ohne Kaposi Sarkom oder HIV nachzuweisen [36,61,114], wobei bei diesen Studien die regionalen Unterschiede in den Prävalenzen des HHV-8 zu beachten sind.

In den Endemiegebieten von KS (äquatoriales, östliches und südliches Afrika) scheint aufgrund der Tatsache, daß auch Kinder hohe, den Erwachsenen ähnliche HHV-8-Seroprävalenzen zeigen und die Seroprävalenzrate mit dem Alter zunimmt, eine nicht-sexuelle Übertragung eine bedeutende Rolle zu spielen [6,20,50,94]. Auch in Italien, einem Land mit hohen Seroprävalenzraten bei gesunden Erwachsenen (13,8 %) [162] und einer hohen Inzidenz von klassischem KS, weisen Kinder vor der Pubertät schon relativ hohe Seroprävalenzraten (4,4 %) auf, was ebenfalls für einen nicht-sexuellen Übertragungsweg des HHV-8 spricht [163]. Hinweise auf eine nicht-sexuelle, intrafamiliäre Übertragung, sei sie horizontal oder vertikal, sahen Angeloni et al. auch in dem gehäuften serologischen Nachweis von HHV-8 unter Ehepartnern, Kindern und Geschwistern von Patienten mit klassischem KS in Sardinien [8], sowie Calabro et al. durch die Untersuchung einer italienischen, HHV-8 positiven Mutter, ihrer beiden Sexualpartner und ihrer beiden HHV-8 positiven Kinder [24]. Ähnliche Beobachtungen beschreiben auch Plancoulaine et al. in ihrer Untersuchung afrikastämmiger Bevölkerung in Französisch Guayana [116].

Sitas et al. vermuten zudem einen Einfluß der äußeren Lebensumstände wie Armut auf die Übertragung des HHV-8, da sie in Südafrika einen deutlichen Unterschied zwischen den

Seroprävalenzen der weißen und schwarzen Bevölkerung feststellen konnten (5 % versus 20 %), der jedoch mit zunehmendem Ausbildungsgrad der schwarzen Bevölkerung abnahm [146].

Zusammengefaßt scheinen je nach Bevölkerungsgruppe und Land unterschiedliche Übertragungswege des HHV-8 von Bedeutung zu sein.

1.2.5 HHV-8 assoziierte Erkrankungen

1.2.5.1 Das Kaposi-Sarkom

Benannt nach dem ungarischen Dermatologen Moritz K. Kaposi ist das Kaposi-Sarkom definiert als eine maligne, multilokuläre Systemerkrankung, die von den Gefäßendothelien ausgeht [58]. Sarcoma idiopathicum multiplex haemorrhagicum, Pseudosarcomatosis haemorrhagica pigmentosa und Retikuloangiomatose sind gebräuchliche Synonyme [2]. Bedingt durch die AIDS-Epidemie steht das KS in der Liste der durch Infektionen verursachten Tumoren an vierter Stelle [75]. Im Mittelpunkt der Pathogenese scheinen Störungen von Wundheilungsprozessen und der Zytokinregulation zu stehen. Nach derzeitigem Stand der Wissenschaft geht man davon aus, daß das Auftreten des KS mit einer Irritation des Immunsystems assoziiert ist, die zu einer Aktivierung CD8-positiver T-Zellen und einer vermehrten Expression von Zytokinen des T-Helfer-Typs 1 mit gesteigerter Produktion von Interferon γ (IFN γ) führt. Ausgehend von einem dem Granulationsgewebe ähnelnden Gewebe, das mit reichlich Entzündungszellen (CD8-positive T-Zellen, Monozyten, Makrophagen) durchsetzt ist, kommt es durch die von den Entzündungszellen sezernierten inflammatorischen Zytokine (unter anderem IFN γ , TNF α , IL-1 β , IL-6) zur Aktivierung von Endothelzellen und Chemotaxis/Rekrutierung zirkulierender Zellen. Dieser Prozeß scheint durch die Infektion mit HHV-8 getriggert oder verstärkt zu werden. Aufgrund dieser Annahme geht man davon aus, daß das frühe Stadium des KS kein Sarkom im eigentlichen Sinne, sondern vielmehr ein hyperplastischer, reaktiv inflammatorischer Prozeß ist. Dafür spricht auch die Polyklonalität des frühen Stadiums, wohingegen die späten Stadien oft monoklonal sind. Diese späten Stadien sind assoziiert mit einer Deregulierung von Onkogenen, Tumorsuppressorgenen und Antiapoptosegenen (c-myc, c-int, ras, p53, Bcl-2) [41].

Nach epidemiologischen und klinischen Gesichtspunkten werden vier Formen des Kaposi-Sarkoms unterschieden: das sogenannte klassische Kaposi-Sarkom (CKS), das Kaposi-Sarkom

bei iatrogener Immunsuppression (PT-KS), das endemische afrikanische Kaposi-Sarkom (AKS) und das epidemische HIV-assoziierte Kaposi-Sarkom (AIDS-KS) [41,58]. Beim klassischen Kaposi-Sarkom sind vor allem Männer nach dem 50. Lebensjahr in Osteuropa und dem Mittelmeerraum betroffen. Diese Form tritt eher selten auf, befällt bevorzugt die untere Extremität und zeigt nur selten eine kutane Dissemination oder eine viszerale Beteiligung [41,58,156]. Das Kaposi-Sarkom bei iatrogener Immunsuppression, z.B. im Rahmen einer Organtransplantation, zeigt ebenfalls einen recht milden Verlauf, hingegen neigt es zu schneller Generalisation [2,41]. Die dritte Form, das endemische afrikanische Kaposi-Sarkom, betrifft vor allem Kinder und junge Erwachsene des äquatorialen, östlichen und südlichen Afrikas, zeigt einen aggressiveren und chronischen Verlauf mit (erst später) Beteiligung der inneren und/oder lymphatischen Organe [41,156]. Beim epidemischen HIV-assoziierten Kaposi-Sarkom handelt es sich um die aggressivste Form mit disseminiert-kutanem und viszeralem (u.a. Lunge, Gastrointestinaltrakt) Befall [2,41]. Das KS ist die häufigste AIDS-assoziierte Tumorentität und ist eine der Hauptursachen für Morbidität und Mortalität der AIDS-Patienten [156]. Im Vergleich zur Normalbevölkerung wird AIDS-Patienten ein 20.000-fach höheres Risiko zugeschrieben, an KS zu erkranken [10].

Die Erstlokalisation kann jede Stelle der Haut oder der Schleimhäute betreffen. Im Falle des klassischen Kaposi-Sarkoms sind es vor allem die Füße und die Unterschenkel, beim HIV-assoziierten Kaposi-Sarkom sind oft die Mundschleimhäute und die Schleimhäute des Gastrointestinaltraktes Ausgangspunkt der Erkrankung. Es finden sich bräunlich-livide oder lividrote, asymptomatische Makulae (early/patch-stage), Plaques (plaques-stage) bis hin zu Tumorknoten (late/nodular-stage), die bevorzugt in Richtung der Spaltlinien der Haut lokalisiert sind [41,57,58] (siehe Abb. 2).



Abb. 2: Kaposi Sarkom (von Dr. Peter Anderson, University of Alabama at Birmingham, Department of Pathology)

Dieses Bild kann unter Umständen über Jahre hinweg keine Veränderung aufweisen. Aber es besteht auch die Gefahr, daß ein schnelles Wachstum und eine disseminierte Ausbreitung auftreten. Dabei kann es zu lokalen Schmerzen und aufgrund von Blutungen in das umgebende Gewebe zu gelbgrünen Verfärbungen kommen. Bei fortschreitendem Wachstum der Tumoren entstehen zentrale Nekrosen und Exulzerationen mit Blutungsneigung. Durch Konfluenz zweier oder mehrerer Sarkome können, verstärkt durch ein Begleitödem, enorme Schwellungen der betroffenen Extremität oder des Gesichts auftreten. Neben der Haut und den Schleimhäuten können auch Lymphknoten und innere Organe, vor allem die Lunge und der Gastrointestinaltrakt, aber auch Milz, Leber, Knochen und Gehirn betroffen sein. Eine solche aggressive und infiltrative Ausbreitung des Tumors kann ohne Behandlung in wenigen Wochen zum Tode führen. Unter Abheilung entstehen graubraune bis hellbraune Hyperpigmentierungen, die zum Teil jahrelang bestehen bleiben. Die Begleitödeme können vor allem an den Unterschenkeln ebenfalls über einen langen Zeitraum persistieren [2,58].

Alle vier Formen zeigen das gleiche histopathologische Bild (siehe Abb. 3), das durch Angioneogenese im mittleren und oberen Korium (aktivierte proliferierende endotheliale Zellen bilden abnorme, bizarr geformte, teils abortive Blutgefäße (slit-like vessels)), Ödem, herdförmige Erythrozytenextravasate, Hämosiderinablagerungen, Infiltration durch lymphomononukleäre Zellen sowie spindelförmige Zellen charakterisiert wird [41,58,155].

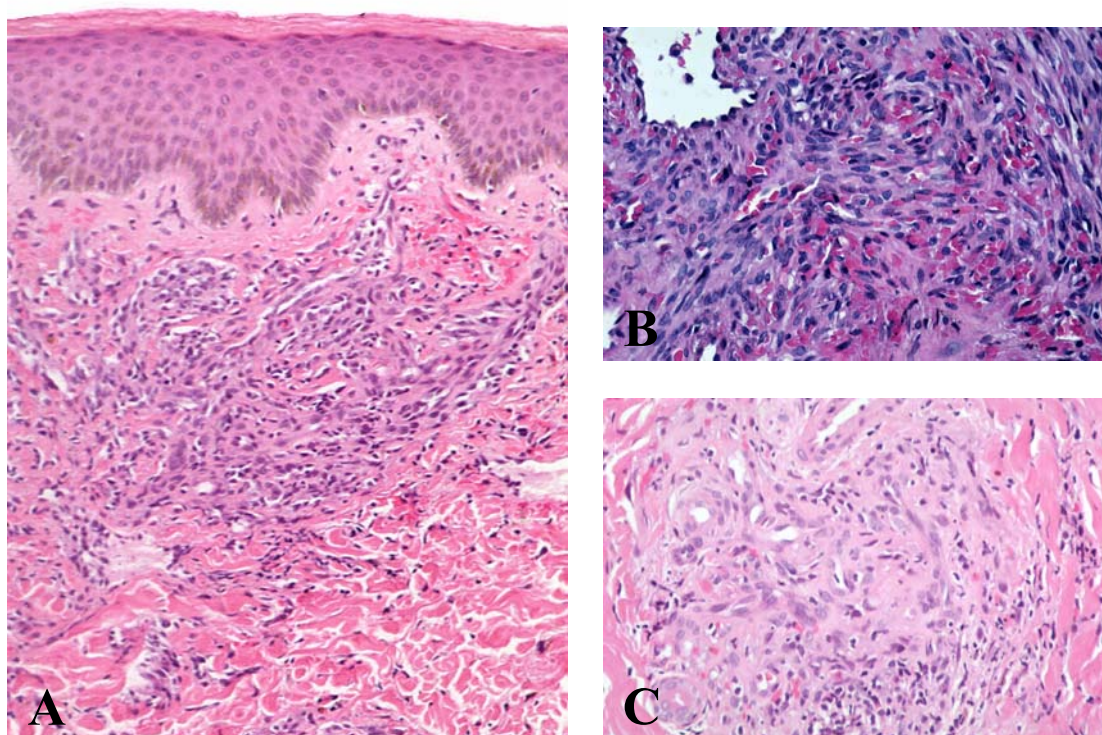


Abb. 3: Histomorphologie des Kaposi Sarkom (A und C von Dr. Peter Anderson, University of Alabama at Birmingham, Department of Pathology; B aus AFIP Atlas of Tumor Pathology)

Diese spindelförmigen Zellen (KS spindle cells = KSC) werden als die Tumorkomponente des Kaposi Sarkoms angesehen und stellen eine heterogene Zellpopulation aus aktivierten vaskulären und lymphatischen Endothelzellen (E-KSC) sowie Zellen, die von Makrophagen abstammen (M-KSC), dar [41]. Immunhistochemisch nachweisbar exprimieren die meisten KSC CD34 und CD36, die Endothel-assoziierte Antigene darstellen, sowie seltener Actin, CD68 (Makrophagen-assoziiertes Antigen) und Faktor XIIIa [124]. Alle KSC scheinen mit HHV-8 infiziert zu sein, wobei jedoch die Mehrzahl der Zellen latent infiziert ist und nur wenige Zellen infektiöse Viren produzieren [71,152].

Die Sicherung der Diagnose erfolgt mittels histologischer Untersuchung einer Tumorbiopsie. Antikörper gegen HHV-8 sind meist schon Monate vor dem Auftreten der ersten Tumoren und je nach verwendeter Untersuchungsmethode in nahezu 100% aller Patienten mit KS nachweisbar. Differentialdiagnostisch wichtig ist die Bazilläre Angiomatose, eine vasoproliferative Erkrankung, die dem Kaposi-Sarkom klinisch ähnelt [58].

Das Kaposi-Sarkom wird nach Mitsuyasu in vier Stadien eingeteilt (Tab. 5), nach denen sich auch die Therapie richtet.

Stadium	Merkmale	Therapie
I	Kutan limitiert (<10 Herde/ anatomischer Bereich)	Vorwiegend Lokaltherapie: z.B. Exzision oder Lasertherapie
II	Kutan disseminiert (>10 Herde / 2 und mehr anatomische Bezirke)	
III	Viszeral (Gastrointestinaltrakt, Lunge, Lymphknoten)	Antivirale Kombinationstherapie + INF- α (Zytostatika sind zwar wirksam, verstärken aber die Immunsuppression → hohes Risiko opportunistischer Infektionen)
IV	Kutan und viszeral	

Tab. 5: 4 Stadien des Kaposi-Sarkoms [57,100]

1.2.5.2 Andere Malignome

Primary effusion lymphoma (PEL) / Body cavity-based lymphoma (BCBL)

Hierbei handelt es sich um ein seltenes Non-Hodgkin Lymphom, das vor allem HIV-positive Patienten betrifft. Charakteristisch ist ein Lymphombefall der Pleura-, Perikard- und/oder Peritonealhöhle ohne Nachweis eines soliden Tumors. Es sind aber auch Fälle beschrieben, in denen maligne Zellen benachbarte Organe infiltrieren, im peripheren Blut nachgewiesen werden können oder eine solide Tumormasse in den Lymphknoten, der Lunge oder dem Gastrointestinaltrakt zu finden ist [29,71,155,156]. Die Tumorzellen sind in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle, nur einige Ausnahmen sind beschrieben [133], B-Zellen mit klonalem Immunglobulin-Gen-Rearrangement, Expression von CD45 und CD138 ohne weitere Marker reifer B-Zellen. Die Morphologie der Tumorzellen weist Ähnlichkeiten mit dem großzelligen immunoblastischen Lymphom und dem anaplastischen großzelligen Lymphom auf. Eine Koinfektion der Tumorzellen mit EBV wird in 86% der Fälle beschrieben [29,155]. Die Tumorzellen zeigen ähnlich den KSC nur eine eingeschränkte Gen- und Proteinexpression, jedoch kann in 10 – 30 % der Zellen vIL-6 nachgewiesen werden [71].

Multicentric Castleman's disease (MCD) / Multicentric angiofollicular hyperplasia

Diese gutartige, lymphoproliferative Erkrankung befällt multiple Lymphknotenstationen mediastinal, mesenterial und/oder peripher [140] und betrifft vor allem HIV-positive Patienten. Die Ursache dieser Erkrankung scheint eine dysregulierte IL-6-Produktion, bei HHV-8-assoziiertem MCD die vIL-6-Produktion zu sein [71]. Das Spektrum der Symptome umfaßt Lymphadenopathie, Splenomegalie bzw. Milzinfiltration und Fieberepisoden [63,155]. Histologische Charakteristika sind vergrößerte Keimzentren mit B-Zell- und Gefäß-Proliferation, wobei zwei histologische Varianten unterschieden werden: zum einen die Plasmazellvariante mit Plasmazellproliferation und Erhalt der nodalen Lymphknotenstruktur, zum anderen die 'hyaline vascular' Variante mit Veränderung der Keimzentren und reichlich hyalinisierten Gefäßen [140]. Überwiegend solitäre, vor allem mediastinal lokalisierte Herde, die durch Exzision kurativ therapiert werden können, zeichnen die 'hyaline vascular' Variante aus [71]. Vor allem die Plasmazellvariante ist HHV-8-assoziiert, wobei das Virus in großen plasmablastischen Zellen nachweisbar ist, die von naive B-cells abstammen und polyklonalen Ursprungs sind [38]. Diese Variante repräsentiert nahezu alle Fälle von MCD bei HIV-positiven Patienten und 40-50% der Fälle bei HIV-negativen Patienten [17,149]. Bei HIV-positiven Patienten ist es oft mit KS vergesellschaftet [140], und es tritt häufig bei HIV-positiven Männern auf, die sich via

Geschlechtsverkehr infiziert haben [111]. Die HHV-8-assoziierte Variante des MCD zeigt oft einen progredienten Verlauf, wobei die Mehrzahl der Patienten innerhalb von zwei Jahren verstirbt. MCD geht oft dem Auftreten eines Non-Hodgkin-Lymphoms voraus, obwohl die Erkrankung selbst als nicht-neoplastisch angesehen wird [71].

Andere

Die Rolle von HHV-8 in Bezug auf andere Erkrankungen oder Tumorentitäten wird zur Zeit noch widersprüchlich diskutiert. So wiesen Retting et al. in dendritischen Zellen des Knochenmarks von Patienten mit Multiplem Myelom HHV-8-DNA nach [128]. Einige Arbeitsgruppen konnten dieses Ergebnis reproduzieren, bzw. einen Zusammenhang zwischen Multiplem Myelom und HHV-8 nachweisen [4,22,32], andere Arbeitsgruppen jedoch nicht [82,86,93,112,160]. Da aber weder Antikörper gegen HHV-8 bei den Patienten nachweisbar waren, noch ein epidemiologischer Zusammenhang zwischen Multiplem Myelom und Kaposi Sarkom besteht, erscheint eine ätiologische Bedeutung des HHV-8 bezüglich des Multiplen Myeloms doch eher zweifelhaft [29]. Auch in Bezug auf das Prostatakarzinom gelangten einige Arbeitsgruppen zu widersprüchlichen Ergebnissen [107,152]. Ebenfalls zweifelhaft wird die Rolle von HHV-8 im Zusammenhang mit epithelialen Hauttumoren nach Organtransplantationen, Pemphigus vulgaris/follicularis, Sarkoidose, Hämangiomen und Aniosarkomen gesehen, bei denen einzelne Arbeitsgruppen Virus-DNA nachweisen konnten [28,155].

1.3 Das Zytomegalievirus (CMV)

Bekannt wurde das Zytomegalievirus durch prä- und perinatale Infektionen mit z.T. schwerwiegenden Folgen für den Embryo bzw. das Neugeborene. Es zählt zu den Beta-Herpesviren, weist ein enges Wirtsspektrum und lange Replikationszyklen auf. Bei der Replikation kommt es vielfach zu Riesenzellbildung und Zytopathologie. Nach der Fixierung der befallenen Zellen lassen sich nukleäre, eulenartige Einschlusskörperchen finden (Eulenaugenzellen). Der häufigste Übertragungsweg des CMV ist der orale. Auf diesem Wege erreicht das Virus zunächst die Speicheldrüsen. Von dort findet die Ausbreitung, die vom Immunstatus des Infizierten abhängig ist, sowohl hämatogen (Leukozyten-assoziierte Virämie) als auch

zellgebunden statt, wobei die Zellen des Gefäßendothels hierbei eine entscheidende Rolle spielen. Desweiteren kann eine Infektion über Blut, Organtransplantate, sexuelle Kontakte (Zervixsekrete, Samenflüssigkeit), Harn und Muttermilch erfolgen. Auch eine transplazentare Übertragung während der gesamten Schwangerschaft von der Mutter auf das ungeborene Kind ist möglich. Pathologische Zellen finden sich vor allem in den Speicheldrüsen, den Nieren und Nebennieren, zirkulierendes Virus vor allem in Leukozyten [12,71,102].

1.3.1 Krankheitsbilder

Die Erstinfektion mit dem Zytomegalievirus verläuft in den meisten Fällen asymptomatisch, in weniger als 5 % der Fälle treten Symptome auf. Nach einer Inkubationszeit von vier bis acht Wochen kommt es bei Immunkompetenten nur gelegentlich zu Symptomen wie Lymphadenopathie, Fieber, Lymphozytose, Ösophagitis, Gastritis, subklinischer Hepatitis, Hepato- und Splenomegalie, Ausschlag und grippeähnlichen Beschwerden. Immunsupprimierte zeigen jedoch einen weitaus schwereren und bisweilen tödlichen Verlauf mit Hepatitis, interstitieller Pneumonie, gastrointestinalen Ulcera, Chorioretinitis und in einigen Fällen auch eine ZNS-Beteiligung in Form einer Enzephalitis. Im Gefolge einer Transplantation kann es durch das Zytomegalievirus zu einer Transplantatentzündung kommen [12,71,102].

Bei einer pränatalen Infektion kann es zu Thrombozytopenie mit petechialen Blutungen, Hepatosplenomegalie, Mikrozephalus mit geistiger und körperlicher Retardierung, Chorioretinitis und Hörschäden bis hin zu Taubheit kommen. Eine eher selten auftretende perinatale Infektion ist in den meisten Fällen symptomlos, selten hat sie eine Pneumonie, Hepatosplenomegalie, Anämie oder Thrombozytopenie zur Folge [12,102].

1.3.2 CMV in der Schwangerschaft

Als einziges Virus in der Familie der Herpesviren ist die vertikale Übertragung des CMV nicht nur beschrieben, sondern tritt häufig auf und spielt somit eine entscheidende Rolle in der

Ausbreitung des Virus [71]. Die Prävalenz der intrauterin erworbenen CMV-Infektionen wird in der Literatur mit 0,2 – 2,5 % aller Lebendgeburten angegeben [43]. In Deutschland wird die Prävalenz der kongenitalen CMV-Infektion auf 0,2 % geschätzt [137], in Europa liegt sie zwischen 0,2 und 0,5 % [158].

Bei Immunschwäche und bei 10 – 20 % aller Schwangeren durch die hormonelle Umstellung in der Schwangerschaft findet sich eine CMV-Aktivierung, die eine Ausscheidung des Virus im Zervixsekret zur Folge hat. Etwa 1/3 aller seropositiven Mütter scheiden das Virus auch mit der Muttermilch aus. Nachweise von CMV-IgM bei vorhandenem CMV-IgG sind häufig. Ähnlich wie bei der Erstinfektion zeigen sich bei einer Reaktivierung keine oder nur milde Symptome, wodurch sie meist unerkannt bleibt. Im Rahmen dieser Reaktivierung kann es aber in etwa 0,2 – 2 % der Fälle zu einer Übertragung auf das ungeborene Kind kommen [91].

Im Falle einer Primärinfektion mit CMV während der Schwangerschaft, die in ca. 0,7 – 4,1 % vorkommt und zu den häufigsten Infektionen in der Schwangerschaft zählt, liegt die Gefahr der transplazentaren Übertragung bei 20 – 40 % [71,91,151].

Zu einer Übertragung des CMV kann es aber auch unter der Geburt (intrapartum) kommen, da etwa 10 % der Schwangeren das Virus im Zervixsekret ausscheiden. Ist bei der Mutter im Zervixsekret CMV nachweisbar, findet sich eine Übertragungsrate auf das Neugeborene von ca. 50 %. Wie bereits erwähnt, scheiden ca. 30 % der seropositiven Mütter das Virus auch mit der Muttermilch aus. Diese Art der Übertragung stellt die häufigste zwischen Mutter und Kind dar. Kinder seropositiver Mütter infizieren sich in 25 % der Fälle. Läßt sich das Virus in der Muttermilch nachweisen, erhöht sich die Zahl der infizierten Kinder auf 69 % [71].

Schätzungen zu Folge sind ca. 1 % aller Neugeborenen mit dem Zytomegalievirus infiziert, womit die kongenitale Zytomegalie eine Spitzenposition unter den intrauterin erworbenen Infektionen einnimmt. Von diesen zeigen etwa 90 % zunächst keine Symptome, 5 % haben ein zu geringes Geburtsgewicht und die restlichen 5 % weisen schwere Störungen (z.B. Mikrozephalus) auf. Das Hauptmerkmal und die am häufigsten auftretende Veränderung der kongenitalen Zytomegalie sind die periventrikulären Verkalkungen. Mit bleibenden Schäden muß bei vorhandener Symptomatik in 50 – 90 % der Fälle gerechnet werden. Doch auch von den zunächst asymptomatischen Kindern bleiben 7 – 25 % dauerhaft geschädigt. Anzumerken ist auch, daß der Typ der mütterlichen Erkrankung (Primärinfektion versus Reaktivierung) einen Einfluß auf die Schwere und den Verlauf der kindlichen Erkrankung hat. Zudem finden sich im Falle einer intrapartum oder über die Muttermilch erworbenen CMV-Infektion weitaus mildere Verläufe als bei kongenitaler Zytomegalie [71,91].

1.4 HIV und AIDS

Das HI-Virus zählt zu den hüllentragenden RNA-Viren der Familie der Retroviren und der Gattung der Lentiviren. Neben den Lentiviren umfaßt die Familie der Retroviren noch zwei andere Gattungen: die HTLV-Retroviren und die Spumaviren [101]. Auf Grund von serologischen Eigenschaften und Genomanalysen werden zwei verschiedene Typen des HI-Virus unterschieden [74]: HIV-1, welches weltweit vorkommt und in der westlichen Welt vorherrschend ist, und HIV-2, das vornehmlich in Westafrika vorkommt. Sowohl HIV-1 als auch HIV-2 werden aufgrund von Sequenzunterschieden in verschiedene Subtypen unterteilt. Entdeckt sind bei HIV-1 bisher drei Subtypen: M (major), N (new, non-M or -O) und O (outlier). Innerhalb des Subtyps M lassen sich 9 verschiedene Genotypen (clades) A – I finden, wobei Genotyp B in Europa und Nordamerika der vorherrschende ist. Die Genotypen A, C und D dominieren in Afrika und in Asien überwiegen B, C und E. HIV-2 wird in sechs Genotypen (A – F) eingeteilt. Es besteht die Möglichkeit einer Doppelinfection mit zwei verschiedenen Typen. Die Entstehung verschiedener Virusmutanten (Quasispezies) im Körper eines Patienten geschieht durch ständige Mutation im Verlauf einer HIV-Infektion und stellt ein Hauptproblem in der antiretroviralen Therapie dar [57,71,101].

Übertragen wird das HI-Virus im Rahmen sowohl homo- als auch heterosexueller Sexualkontakte durch Samen- oder Vaginalflüssigkeit und parenteral über Blut und Blutprodukte. Auch eine Übertragung von der Mutter auf das Kind ist pränatal über die Plazenta, unter der Geburt und durch das Stillen (die Muttermilch kann auch ohne eine Kontamination mit Blut HI-Viren enthalten) möglich [57,101].

1.4.1 Geschichte

Ende der siebziger und Anfang der achtziger Jahre des letzten Jahrhunderts erregten in den USA bis dato unbekannte Krankheiten bzw. Krankheitsverläufe, die (zunächst) ausschließlich Homosexuelle betrafen, die Aufmerksamkeit der Wissenschaft. Die Zahl der CD4-positiven T-Lymphozyten (T-Helferzellen) der Erkrankten war z.T. bis auf Werte Nahe Null abgesunken, sie wiesen eine generalisierte Lymphdeopathie, opportunistische Infektionen mit *Pneumocystis carini* und anderen seltenen Erregern auf und zeigten seltene Tumoren wie das Kaposi Sarkom [71]. Als betroffen glaubte man nur Homosexuelle. Ein frankokanadischer Airline-Steward, der

in vielen Ländern über Jahre homosexuellen Geschlechtsverkehr hatte, wurde als „Patient 0“, als Erstinfizierter genannt. Namen wie „Schwulenkrebs“ oder „Schwulenpneumonie“ wurden für die Erkrankung mit einer Sterblichkeitsrate von über 40 % (1981) benutzt. Anhaltspunkte für ein Virus als Auslöser der Erkrankung, die den Namen AIDS – Acquired Immuno Deficiency Syndrome erhielt, fanden sich erstmals im Jahre 1981. Weltweit traten immer neue Krankheitsfälle auf, wobei mittlerweile neben Homosexuellen nun auch Neugeborene, Empfänger von Bluttransfusionen und Hämophiliepatienten betroffen waren [71]. Entdeckt wurde das Virus im Jahre 1983 von Luc Montagnier (Pasteur-Institut in Paris) [9] und Robert Gallo (National Institute of Health in Bethesda) [46] und erhielt vom internationalen Komitee für Taxonomie 1986 den Namen Human Immunodeficiency Virus (HIV) [33].

1.4.2 Morphologie des HIV-1

Die HI-Viren sind im Durchmesser etwa 100 nm und besitzen eine Hülle, die von der Zytoplasmamembran der Zelle gebildet wird. In diese Hülle sind zwei verschiedene virale Glykoproteine integriert, die aus einem gemeinsamen Vorläuferprodukt (gp160) durch die Spaltung mittels einer Furinprotease hervorgehen: zum einen das transmembrane Protein (TP) mit einem Molekulargewicht von 41 kD (gp 41), zum anderen das externe Glykoprotein (EP) mit einem Molekulargewicht von 120 kD (gp 120), welches mit dem äußeren Teil des transmembranen Proteins assoziiert ist. Das gp120 weist eine hohe Variabilität bezüglich seiner Aminosäuresequenz auf, die vor allem fünf Bereiche (V1 bis V5) betrifft. Die Region V3 ist dabei von besonderer Bedeutung, da sie den Angriffspunkt für neutralisierende Antikörper darstellt und beim Eintritt in die Wirtszelle eine wichtige Rolle spielt. An der Hüllinnenseite sind die Matrixproteine (MA) in Form von Trimeren lokalisiert, die durch die Ausbildung einer netzartigen Proteinschicht den Viren eine isometrische Struktur geben. Das konische, aus Kapsidproteinen aufgebaute Viruskapsid oder Core befindet sich im Zentrum des Virus. Es enthält das Genom des Virus, zwei gleichartige einzelsträngige RNA-Genome von Plus-Polarität, und die viralen Enzyme Protease (PR), Integrase (IN) und Reverse Transkriptase (RT). Zwischen Core und Hülle befindet sich das Link-Protein (LI), welches beide miteinander verbindet. Der Hauptbestandteil der sogenannten Lateralkörperchen, die nahe der Hüllinnenseite liegen und wahrscheinlich elektronenmikroskopische Artefakte sind, ist das Matrixprotein [101].

1.4.3 Pathogenese und Replikation des HIV-1

Um sich replizieren zu können, ist das HI-Virus auf mehrere Dinge angewiesen: Rezeptoren an der Zelloberfläche, um in die Zelle eindringen zu können, zytoplasmatische Transportmechanismen und die „Transkriptionsmaschinerie“ im Zellkern. Allen voran dienen CD4-positive T-Lymphozyten (T-Helferzellen) dem HIV-1 als Wirtszellen, aber auch andere CD4-positive Zellen, wie Makrophagen, Monozyten und Langerhans Zellen der Epidermis. Erfolgt die Infektion über Verletzungen der Haut oder Schleimhaut, handelt es sich bei den ersten befallenen Zellen wahrscheinlich um Makrophagen und Langerhans Zellen. Die Makrophagen dienen den Viren als Reservoir, so daß diese über lange Zeit persistieren können. Der Eintritt in die Zelle erfolgt mittels Interaktion des viralen Hüllproteins gp120 mit dem CD4-Rezeptor. Von den vier extrazellulären Domänen des CD4-Proteins besitzt die aminoterminal Domäne drei Bereiche, die den complementarity-determining regions (CDR) der Immunglobuline gleichen. Das HI-Virus geht mittels der konservierten Region C3 des gp120 eine hoch affine Bindung mit CDR2 und CDR3 ein. Die hochvariable Region V3 des gp120 bindet an einen Korezeptor, meistens den β -Chemokinrezeptor CCR5. Bei einem CCR5-Gendefekt, der bei 1 % der Europäer vorkommt, besteht ein partieller Schutz vor einer Infektion mit HIV-1. Neben den CD4-tragenden Zellen ist das Virus auch in der Lage, neuronale Zellen wie Schwannsche Zellen oder Oligodendrozyten zu befallen. Bei diesen Zellen ist wahrscheinlich das Glykolipid Galactosylceramid der Bindungspartner für gp120. Durch die Bindung des Virus an den CD4-Rezeptor kommt es zu einer Änderung der Proteinstruktur, die die Aktivierung der Membranfusionsaktivität des gp41 zur Folge hat. Zytoplasmamembran und Virushülle verschmelzen, wodurch das Kapsid in die Zelle übertreten kann. Nach dem Eintritt in die Zelle wird die virale RNA mittels der Reversen Transkriptase in komplementäre DNA transkribiert und zu doppelsträngiger DNA ergänzt. Mit einer Wahrscheinlichkeit von 10^{-3} bis 10^{-4} werden bei diesem Vorgang falsche Basenpaare eingefügt, weil die Reverse Transkriptase die Lesegenauigkeit nicht kontrollieren kann. Das ist einer der Gründe, warum das HI-Virus eine hohe Mutationsrate aufweist. Die DNA wird in den Zellkern transportiert und dort unter Einwirkung der Integrase in das Genom der Zelle integriert. Wie alle Lentiviren kann das HI-Virus auch ruhende Zellen befallen [76,101].

Die Transkription erfolgt durch die zelluläre RNA-Polymerase II. Das erste synthetisierte Virusprotein ist das Tat-Protein (transactivator of transcription), das in den Zellkern wandert und dort die Transkriptionsrate erhöht. Ebenfalls zu den frühen Proteinen zählt das Rev-Protein, das an die RRE der einfach-gespleißten oder ungespleißten viralen mRNA-Moleküle bindet und somit deren Transport ins Zytoplasma begünstigt. Dadurch kommt es zum Übertritt in die späte

Phase des Replikationszyklus. An der Membran des endoplasmatischen Retikulums werden die Membranproteine synthetisiert, wobei beide Proteine (gp120 und gp41) durch Spaltung aus einem gemeinsamen Vorläuferprodukt (gp160) hervorgehen. Diese Spaltung findet während des Transportes zur Zytoplasmamembran der Wirtszelle statt, wo die Proteine in die Membran integriert werden. An den freien Ribosomen im Zytoplasma werden die Gag- und Gag/Pol-Vorläuferproteine synthetisiert, von wo aus sie mit Hilfe zellulärer Faktoren ebenfalls zur Zytoplasmamembran gelangen. Dort akkumulieren sie und interagieren mit den bereits in die Membran integrierten viralen Glykoproteinen. Auch ungespleißte RNA-Moleküle werden zur Zytoplasmamembran transportiert. Jeweils zwei RNA-Moleküle, die zusammen das Virusgenom der nächsten Generation darstellen, treten in Kontakt mit der „modifizierten“ Zytoplasmamembran. Dadurch kommt es zur Ausstülpung der Zytoplasmamembran und zur Abschnürung noch unreifer Viruspartikel. In den Viruspartikeln wird durch autokatalytische Spaltung aus den Vorläuferproteinen die Protease freigesetzt. Diese spaltet aus verbliebenen Vorläuferproteinen die Reverse Transkriptase und Integrase sowie die Matrix-, Kapsid-, Nukleokapsid- und Link-Proteine ab. Durch diesen Prozeß werden die Viruspartikel infektiös [76,101].

Da das Tat-Protein des HIV-1 eine Rolle im Zusammenhang mit dem KS spielt, sei im Besonderen auf dieses Protein eingegangen. Zur Zeit gelten die Lentiviren als einzige Virengruppe, die über Tat-Proteine verfügt. Codiert wird das Tat-Protein durch zwei Exons. Während des Infektionszyklus stellt es das erste synthetisierte Virusprotein dar und wirkt überwiegend im Zellkern. Durch seine Bindung an das TAR-Element (trans-activation response) am 5'-Ende der viralen mRNA-Moleküle entfaltet es seine transaktivierende Wirkung, in dem die Transkription des LTR-Promotors um mehr als hundertfach verstärkt wird. Desweiteren scheinen einige Tat-Proteine von den infizierten Zellen in die Umgebung sezerniert zu werden. Dort ist es biologisch aktiv und kann durch die Bindung an Integrine auf der Oberfläche anderer Zellen zum einen die Aufnahme in diese Zellen und nach dem Transport in den Zellkern die Transaktivierung zellulärer Gene bewirken. Zum anderen kann durch die Bindung an die Zelloberfläche eine Signalkaskade in Gang gesetzt werden, die zu einem veränderten Genexpressionsmuster in diesen Zellen führt. Dadurch ist eine Beeinflussung der Synthese von Zytokinen, Enzymen, Adhäsionsfaktoren und Wachstumsrezeptoren möglich. Wichtig für diese Funktion des Tat-Proteins ist ein Abschnitt in der carboxyterminalen Domäne des Proteins, eine Sequenzfolge von Aminosäuren, die regelmäßig an Proteininteraktionen beteiligt ist: Arginin – Glycin – Asparaginsäure = RGD) [41,101].

1.4.4 Klinik und Stadieneinteilung

Die „serologische Inkubationszeit“, definiert über den Zeitabstand zwischen der Infektion und dem Auftreten von Antikörpern gegen HIV im Serum, beträgt 1 – 3, in seltenen Fällen bis zu 6 Monaten. Die „klassische Inkubationszeit“ als Zeitraum zwischen der Infektion und den ersten Krankheitssymptomen, d.h. dem Auftreten von AIDS, ist von verschiedenen Faktoren wie dem Immunstatus, dem Ernährungszustand, dem Lebensstil, Begleiterkrankungen, der Effizienz der Therapie und dem Lebensalter abhängig. Sie liegt bei Erwachsenen in den Industrienationen bei 10 ± 2 Jahren, in den Ländern der Dritten Welt kommt es früher zu ersten Symptomen. Auch bei perinataler Infektion ist die Inkubationszeit mit nur etwa 5 Jahren kürzer. Ein exzellenter Marker für den Grad der Immundefizienz und das Risiko, eine opportunistische Infektion zu entwickeln, ist die Zahl der CD4-positiven T-Lymphozyten. Die Viruslast dient hingegen als wichtigster prognostischer Faktor für die HIV-Erkrankung. Die HIV-Infektion läßt sich auf der Basis klinischer Befunde in vier Gruppen (I – IV) einteilen. Da die Erkrankung stationär bis progressiv verläuft, kann es keine Rückstufung in den Stadien bzw. Gruppen geben [57,71].

Als Gruppe I wird die Akute HIV-Krankheit bezeichnet und verläuft in vielen Fällen inapparent. In 20 – 30 % der Fälle ist die Primärinfektionen durch Symptome begleitet, jedoch bleiben sie meist unerkannt. In einem Zeitraum von 6 Tagen bis 6 Wochen nach der Infektion treten Symptome wie Fieber, Lymphknotenschwellung, Hepatosplenomegalie, Angina und in seltenen Fällen Meningoenzephalitis auf. Diese Symptome erinnern an die Mononukleose. Gegen die Mononukleose spricht aber ein negativer Paul-Bunnell-Test und das lymphopenische Blutbild. Manchmal leiden die Infizierten auch unter einer Art Hautausschlag, der vor allem den oberen Körperstamm betrifft und nach 1 –2 Tagen wieder verschwindet. Verstreut auf der Haut finden sich bis zu 1 cm große, z.T. geschwollene und leicht juckende Flecken. Desweiteren können Myalgien, Arthralgien, Diarrhö, Übelkeit, Erbrechen, Kopfschmerzen, Gewichtsverlust, Candidiasis und neurologische Symptome auftreten. Antikörper gegen HIV lassen sich in dieser Zeit in der Regel noch nicht nachweisen [57,71,101].

Die Asymptomatische Infektion oder Latenzphase stellt die Gruppe II dar. Hierbei wird noch eine Gruppe II A von einer Gruppe II B unterschieden, wobei im Falle der Gruppe II A die Laborwerte im Normbereich liegen. Bei Infizierten der Gruppe II B findet man hingegen pathologische Laborwerte. Klinisch zeigen sich sowohl die Betroffenen der Gruppe II A als auch die der Gruppe II B gesund. Sie tragen aber das Virus, das sich im lymphatischen Gewebe vermehrt, in sich und sind damit ansteckend [57].

Die Gruppe III wird als Generalisierte Lymphadenopathie oder Lymphadenopathie-Syndrom (LAS) bezeichnet. Auch hier werden wie in Gruppe II anhand der Laborwerte zwei Untergruppen unterschieden. Der Test auf HIV-Antikörper fällt in diesem Stadium positiv aus. Gekennzeichnet ist das LAS durch persistierende, d.h. über einen Zeitraum von drei Monaten hinaus bestehende, Lymphknotenschwellungen an mindestens zwei extrainguinalen Lokalisationen. Die betroffenen Lymphknoten sind nicht druckschmerzhaft und haben einen Durchmesser von mehr als 0,5 cm. Allgemeinsymptome sind nicht vorhanden [57,101].

In der Gruppe IV A – E sind die HIV-assoziierten Erkrankungen zusammengefaßt, wobei ein Betroffener mehreren Untergruppen zu gleich angehören kann. Der AIDS-Related-Complex (ARC) stellt die Untergruppe IV A dar. Definiert ist er durch zwei klinische Symptome und zwei Laborwerte aus Tab. 6 [57].

Klinische Symptome	Laborbefunde
Nachtschweiß > 1 Monat	T-Helferzellen < 400/ μ l
Unfreiwilliger Gewichtsverlust > 10 %	T ₄ /T ₈ -Quotient < 1
Fieber > 1 Monat (ohne andere Ursache)	Granulozytopenie
Diarrhö > 1 Monat (ohne andere Ursache)	Thrombozytopenie
	Anämie
	Vermehrung der γ -Globuline (insbes. IgG)
	Verminderung oder Verzögerung der
	Hautreaktion vom verzögerten Typ

Tab. 6: Mögliche klinische Symptome und Laborbefunde, wobei vom AIDS-Related-Complex gesprochen wird, wenn zwei dieser klinischen Symptome und zwei der Laborbefunde vorhanden sind [57]

In der Untergruppe IV B sind die neurologischen Erkrankungen zusammengefaßt. Hierbei handelt es sich im wesentlichen um drei Erkrankungen: die subakute HIV-Enzephalitis mit Hirnatrophie, die Myelopathie mit Degeneration der Rückenmarksbahnen und die Periphere Neuropathie [57].

Die Untergruppe IV C umfaßt die große Gruppe der Infektionen, wobei man zwischen den opportunistischen Infektionen (C 1), die AIDS definieren, und anderen Infektionen (C 2) unterscheidet. Zu den Erregern der opportunistischen Infektionen, die in 80 % der Fälle die Erstmanifestation von AIDS kennzeichnen, zählen Protozoen (*Pneumocystis carinii*, *Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium parvum*, *Isospora belli* und *hominis*, Mikrosporidien), Pilze (*Candida*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus*, *Histoplasma capsulatum*), Bakterien (atypische Mykobakterien (*Mycobacterium-avium*-Komplex = MAC)) und Viren (CMV, HSV, Papovaviren). Nicht selten kommt es zu Mehrfachinfektionen. Zur Gruppe IV C 2 zählen die

orale Candidiasis, die orale Haarleukoplakie (Erreger: EBV), der Herpes zoster, die Lungentuberkulose und die Nokardiose [57].

Malignome, die AIDS definieren, bilden die Untergruppe IV D. Das epidemische Kaposi-Sarkom, ZNS-Lymphome, Non-Hodgkin-Lymphome (überwiegend hochmaligne und vom B-Zelltyp) und das invasive Zervixkarzinom gehören dieser Untergruppe an [57].

Andere Erkrankungen wie die interstitielle Pneumonie bei Kindern oder das Wasting-Syndrom, gekennzeichnet durch einen Gewichtsverlust von mehr als 10 %, Schwäche (meist zusammen mit chronischer Diarrhö, zählen zur Gruppe IV E [57].

Eine andere Einteilung (Tab. 7) in die Stadien A1 – C3 orientiert sich sowohl an klinischen Kategorien (A – C) als auch an dem Laborparameter der T-Helferzellen (1 – 3).

		Klinische Kategorien		
		A	B	C
CD4-positive Zellen / µl		Asymptomatische oder akute HIV- Krankheit oder LAS	Symptomatisch, aber nicht A oder C	AIDS-Indikator- Krankheiten
1	>500	A1	B1	C1
2	200 – 499	A2	B2	C2
3	<200	A3	B3	C3

Tab. 7: CDC-Stadieneinteilung der HIV-Infektion von 1993 [1]

1.4.5 HIV-Erkrankung und HHV-8

HIV- und HHV-8-Infektion und -Erkrankung scheinen in einem Zusammenhang zu stehen, wobei HIV einen Einfluß auf die HHV-8-Erkrankung selbst und ihren Verlauf ausübt.

Die Inzidenz von KS zeigt sich bei HIV-1-infizierten Patienten um mindestens 20.000-fach erhöht [11]. Das AIDS-KS zeichnet sich im Vergleich zu den drei anderen Formen des KS durch seine höhere Aggressivität aus (vgl. auch 1.2.5.1). Es zählt zu den häufigsten neoplastischen Erkrankungen in einigen Regionen Afrikas [30].

Die Inkubationszeit bis zum Auftreten von KS hängt unter anderem von der Reihenfolge der Infektion ab. Studien belegen, daß Patienten, die sich zuerst mit dem HI-Virus und danach mit HHV-8 infiziert haben, AIDS-KS schneller entwickeln als Patienten, die vor ihrer Infektion mit dem HI-Virus bereits HHV-8-positiv waren [71].

Wie bereits in Abschnitt 1.4.3 erwähnt, spielt das Tat-Protein des HIV-1 in der Pathogenese des AIDS-KS eine besondere Rolle. HIV-1 Tat scheint sowohl die Inzidenz als auch die Aggressivität von KS zu erhöhen [41,106]. Harrington et al. beschreiben, daß HIV-1 Tat die Expression von Zytokinen induziert, die normale Endothelzellen die Charakteristika von KSC annehmen läßt, und HHV-8 in peripheren Blutlymphozyten aktiviert [55]. Zudem konnten Huang et al. zeigen, daß HHV-8 und HIV-1 sich wechselseitig in ihrer Genexpression verstärken [62]. Eine weitere Erklärung für die höhere Aggressivität des AIDS-KS sehen Morini et al. in der Fähigkeit von HIV-1 Tat, den VEGF-Rezeptor KDR von Endothelzellen und KSC zu aktivieren und dadurch unter anderem die Migration von KSC zu induzieren [106]. Desweiteren kann HIV-1 Tat durch die Induktion zellulärer proinflammatorischer und pro-proliferativer Gene (und deren Proteine IL-6, MCP-1, VCAM-1 und ICAM-1) die höhere Aggressivität von AIDS-KS bedingen [68].

Nicht nur das KS sondern auch das PEL zeigt im Rahmen von AIDS eine aggressivere Verlaufsform mit einem mittleren Überleben vom Zeitpunkt der Diagnose von 5 – 7 Monaten [71].

1.5 Zielsetzung der Arbeit

Mit der Entdeckung des HHV-8 und seiner Rolle in der Entstehung von KS und anderen Erkrankungen (siehe 1.2.5) gewann auch die Frage nach den Übertragungswegen des Virus eine große Bedeutung. Vor allem die Möglichkeit der vertikalen Übertragung wird seitdem intensiv und kontrovers diskutiert.

Serologische Untersuchungen von Neugeborenen und Kindern (vor allem in den Endemiegebieten von KS) zeigten relativ hohe HHV-8-Seroprävalenzraten (siehe auch 1.2.4). Da aber insbesondere bei Neugeborenen eine sexuelle Übertragung und in den meisten Fällen ebenfalls die (ohnehin nicht gesicherte) Übertragung durch Blut und Blutprodukte ausgeschlossen werden kann, liegt die Vermutung nahe, daß in dieser Population andere Übertragungswege von Bedeutung sein müssen. Vor allem im Falle HHV-8-positiver Neugeborener könnte eine vertikale, transplazentare Übertragung eine übergeordnete Rolle spielen. Zudem ist in Bezug auf die Möglichkeit der vertikalen Übertragung HHV-8 nicht der einzige Vertreter aus der Familie der Herpesviren, denn bei CMV, VZV und HHV-6 ist die vertikale Übertragung als ein Übertragungsmodus bereits beschrieben [136].

Hauptziel dieser Arbeit ist die Beantwortung der Frage, ob auch im Falle des HHV-8 eine vertikale Übertragung möglich bzw. von Bedeutung ist. Bezogen auf Nicht-Endemiegebiete des HHV-8 liegen zu diesen Fragen zurzeit keine Studien vor.

Zur Beantwortung dieser Frage wurde das endgültige Untersuchungskollektiv durch die HHV-8-Seropositivität der Mütter definiert. Durch die Screeninguntersuchung von 308 mütterlichen Serumproben konnten die Mütter mit IgG-Antikörpern gegen HHV-8 und ihre Neugeborenen ausgewählt werden. Das Blut der ausgewählten Neugeborenen wurde auf IgG- und IgM-Antikörper gegen HHV-8 sowie HHV-8-DNA getestet, das der ausgewählten Mütter auf IgM-Antikörper gegen HHV-8, auf IgG- und IgM-Antikörper gegen CMV sowie auf HHV-8-DNA.

Weitere Aspekte dieser Arbeit liegen im Vergleich der beiden Herpesviren CMV und HHV-8, vor allem im Bezug auf ihr Verhalten während der Schwangerschaft (Reaktivierung) und den vertikalen Übertragungsmodus, und im Vergleich der Seroprävalenzraten des HHV-8 in den verschiedenen Untersuchungskollektiven.

Als Kontrollkollektiv wurden bewußt HIV-positive Patienten ausgewählt. Die Gründe hierfür liegen zum einen in den bekannten hohen HHV-8-Seroprävalenzraten, so daß die verwendeten Untersuchungstechniken getestet werden konnten. Zum anderen soll als Nebenaspekt dieser Arbeit auf den beschriebenen Zusammenhang zwischen HIV und HHV-8 eingegangen werden.

2 Material und Methoden

2.1 Zellkultur und Stimulationsversuch

Zellen: BCBL-1 Zellen [126]: B-Zell-Lymphomzelllinie, HHV-8-positiv, EBV-negativ

BJAB-Zellen: Lymphomzelllinie, EBV-negativ

Zur Induktion werden Phorbol-Ester (4 β -phorbol-12-myristate-13-acetate, SIGMA No. P-8139) und humanes, rekombinantes Interleukin 6 (Boehringer Mannheim Biochemica, Best. Nr. 1138 600) benutzt. Anschließend werden die Zellen für zwei bis drei Tage bei 37°C im Brutschrank inkubiert und dann weiter verwendet.

Phorbol-Ester (PE):

Die Gebrauchslösung wird aus 1 ml Phorbol-Ester und 5 ml DMSO hergestellt. Zu 100 ml Medium werden 10 μ l Phorbol-Ester (20 ng/ml) gegeben.

Interleukin 6 (IL-6):

Zur Herstellung der Gebrauchslösung wird das IL-6 (500.000 U/ml) in 9 ml RPMI (5 % FKS) aufgenommen.

2.2 Herstellung von Objektträgern

Der Inhalt einer T 175 Zellkulturflasche (100 ml) wurde in zwei Falcon-Plastikröhrchen (50 ml) überführt. Die Röhrchen wurden bei 85 $\times$ g (MSE Zentrifuge 600 UPM, r_m = 21,2 cm) 10 min zentrifugiert. Der Überstand wurde vorsichtig dekantiert und das Sediment mit 10 ml PBS suspendiert. Die Suspensionen der beiden Röhrchen wurden vereinigt und erneut zentrifugiert. Der Überstand wurde vorsichtig dekantiert und das Sediment in 10 ml PBS aufgenommen. Mit der Pasteurpipette wurde etwas Zellsuspension entnommen, in eine Neubauer-Zählkammer gefüllt und die Zellen ausgezählt. Nach erneuter Zentrifugation wurde das Sediment anhand der vorangegangenen Zellzählung in PBS suspendiert, so daß die Dichte $1,2 \times 10^5$ Zellen / 2 μ l (= 6×10^7 /ml) betrug. Jeweils 2 μ l der Zellsuspension wurden auf die vorgesehenen Felder der Objektträger aufgetragen, trocknen gelassen und 10 min in Aceton fixiert.

2.3 Immunfluoreszenztest

Der Immunfluoreszenztest diente zum Nachweis von HHV-8-Antikörpern im Serum bzw. Plasma der untersuchten Personen.

Gearbeitet wurde mit einer 1:40 Serumverdünnung beim IgG-IFA und mit einer 1:21 Serumverdünnung beim IgM-IFA. Zur Vorabsorbierung von Rheumafaktoren wurde beim IgM-IFA das Serum mit RF-Absorbens (Dade Behring) versetzt. Mit Hilfe einer Eppendorfpipette wurden 20 µl der Serumverdünnung auf die vorgesehenen Felder der Objektträger aufgetragen. Auf die Felder 1 + 5 wurde die positive und auf die Felder 2 + 6 die negative Kontrolle pipettiert. Die Objektträger wurden für 30 min bei 37°C in einer feuchten Kammer inkubiert. Danach wurden die Objektträger mit destilliertem Wasser abgespült, in Färbetröge gestellt und zweimal jeweils 5 min mit PBS gewaschen. Es wurde mit einer 1:30 FITC-konjugierten-anti-human-Immunglobulin-Verdünnung („Konjugat“ oder „Zweitantikörper“) gearbeitet. Dabei mußte beachtet werden, daß das Konjugat lichtempfindlich ist, so daß nur die benötigte Menge hergestellt wurde. Die Objektträger wurden aus dem Färbetrog genommen und mit dem Fön getrocknet. Jeweils 20 µl des verdünnten Konjugats wurden auf die Felder aufgetragen. Die Objektträger wurden erneut 30 min bei 37°C in einer feuchten Kammer inkubiert. Anschließend wurden sie mit destilliertem Wasser abgespült, in Färbetröge gestellt und zweimal jeweils 5 min mit PBS gewaschen. Nach dem Trocknen wurden die Objektträger mit Mounting-Fluid eingedeckt und mit einem Deckglas versehen. Die Auswertung erfolgte unter dem Fluoreszenzmikroskop (1:25 Neofluar-Objektiv, Zeiss-Filterkombination FT 510 und LP 520).

2.4 Virus-DNA-Isolierung

2.4.1 High Pure Viral Nucleic Acid Kit®

Boehringer Mannheim (Best. Nr. 1 858 874)

Diese Methode diente zur Isolierung der viralen DNA aus Vollblut der untersuchten Personen.

Vorbereitung:

Proteinase K wurde in 4,5 ml bidest. H₂O aufgenommen und aliquotiert bei -20°C gelagert.

Der Waschpuffer wurde mit 40 ml Ethanol p.A. versetzt.

Poly(A)Carrier-RNA wurde in 0,4 ml Elutionspuffer gelöst und portioniert à 40 µl bei – 20°C gelagert. Zur Herstellung einer Arbeitslösung für 10 Proben wurde eine Portion aufgetaut und mit 2,5 ml Bindepuffer versetzt. Die Arbeitslösung wurde immer frisch hergestellt, da die Poly(A) Carrier-RNA bei Lagerung bei RT ausfällt.

Durchführung:

Mittels des High Pure Viral Nucleic Acid Kits® wurden die viralen Nukleinsäuren aus Vollblut isoliert. Es wurden 200 µl Vollblut mit 200 µl Arbeitslösung und danach mit 40 µl Proteinase K versetzt. Die Proben wurden sofort gut gemischt und für 10 min bei 72°C inkubiert. Dann wurden je 100 µl Isopropanol zu den Proben pipettiert und gut gemischt. Die High Pure Filter-Tubes wurden in ein Auffanggefäß gesetzt und die Proben jeweils in das obere Reservoir pipettiert. Die Auffanggefäße inklusive Filter-Tubes wurden 60 sec bei 8000 × g in einer Standard-Tischzentrifuge zentrifugiert. Der Durchlauf wurde verworfen und die Filter-Tubes in neue Auffanggefäße gesetzt. Es wurden 450 µl Waschpuffer in das obere Reservoir pipettiert und 60 sec bei 8000 × g zentrifugiert. Der Durchlauf wurde verworfen und die Filter-Tubes in neue Auffanggefäße gesetzt. Es wurden 450 µl Waschpuffer zugegeben, 60 sec bei 8000 × g und danach ca. zehn Sekunden bei 13000 × g zentrifugiert. Die Filter-Tubes wurden in saubere, nucleasefreie 1,5 ml Reaktionsgefäße eingesetzt. Zur Elution der Nukleinsäuren wurden jeweils 50 µl Elutionspuffer in die Filter-Tubes gegeben und für 60 sec bei 8000 × g zentrifugiert.

2.4.2 DNA-Extraktion nach Boom

Sie diente als Alternativmethode zur Extraktion von viraler DNA aus Vollblut [19,49,60].

Material:

Lysispuffer [60]:

5 M Guanidine thiocyanate (MW 118,1)	590 g
1 % Triton X-100	10 ml
0,5 M EDTA	40 ml
1 M Tris-HCl pH 6,4	20 ml

Jeweils 900 µl wurden in konische Reaktionsgefäße (1,5 ml) mit Schraubdeckel gegeben.

NUCLISENSTM – Isolation Kit No. 84123 (für 50 Extraktionen) (Organon[®])Durchführung:

Nukleinsäurefreisetzung

Die Reaktionsgefäße mit Lysispuffer wurden in einer Eppendorf-Zentrifuge 15 sec bei $10.000 \times g$ zentrifugiert. Danach wurden die Reaktionsgefäße auf Kristalle überprüft und gegebenenfalls erneut zentrifugiert. Es wurden 200 µl Vollblut (EDTA- oder Heparin-Blut) hinzugegeben und kurz gevortext.

Nukleinsäureisolierung

Der Waschpuffer aus dem Kit (22 ml für 10 Proben) wurde für 30 min bei 37°C inkubiert, wobei er alle zehn Minuten bewegt wurde, um die Kristalle vollständig zu lösen, und anschließend wieder auf Raumtemperatur abgekühlt. Das Reaktionsgefäß (0,8 ml) mit Silica-Partikeln aus dem Kit wurde gevortext, bis die Lösung trüb erschien. Dieser Vorgang wurde unmittelbar vor der Zugabe zu den Proben wiederholt. Die Proben wurden für 30 sec bei $10.000 \times g$ zentrifugiert. Es wurden 50 µl der Silica-Suspension zu jeder Probe gegeben. Für 10 min wurden die Proben bei Raumtemperatur inkubiert, wobei ca. alle 2 min gevortext wurde. Nach dieser Zeit wurden die Proben für 30 sec bei $10.000 \times g$ zentrifugiert. Der nach der Zentrifugation entstandene Überstand wurde vorsichtig, ohne das Sediment zu berühren, abgesaugt, wobei nach jeder Probe eine neue Spitze verwendet wurde. Es wurde 1 ml Waschpuffer zupipettiert und nach jeder Probe die gestopften Spitzen gewechselt. Die Proben wurden kurz gevortext, um das Sediment zu lösen und bei $10.000 \times g$ für 30 sec zentrifugiert. Der entstandene Überstand wurde vorsichtig abgesaugt und 1 ml Waschpuffer zugegeben. Die Proben wurden gevortext und für 30 sec bei $10.000 \times g$ zentrifugiert. Diese Prozedur wurde anschließend noch zweimal mit 70 % Ethanol und einmal mit Aceton durchgeführt. Dann wurde der Überstand vorsichtig jeweils unter Verwendung neuer Spitzen abgesaugt. Die geöffneten Röhrchen wurden im Anschluß für 10 min bei 56°C mit Papier bedeckt inkubiert.

Elution

Den Proben wurden jeweils 50 µl Elutionspuffer aus dem Kit zugegeben. Die Proben wurden gevortext, bis sich das Sediment gelöst hatte. Es wurde 2 min bei $10.000 \times g$ zentrifugiert. Der

Überstand (etwa 30 – 35 µl) wurde unter Verwendung gestopfter Spitzen in neue Röhrchen überführt.

2.4.3 DNA-Extraktion aus PCR-Produkten

Jeweils 80 µl der Probe wurden in Eppendorfhütchen pipettiert. Nach der Zugabe von 40 µl Ethanol wurde auf unterer Stufe für ca. 30 sec gevortext. Es wurden 40 µl SEVAG (Chloroform-Isoamylalkohol 25:1) hinzugegeben. Die Proben wurden 5 min bei 15.000 UPM zentrifugiert. Die wässrige Phase wurde in neue Eppendorfhütchen überführt, und es wurden ca. 75 µl SEVAG (entspricht der bereits im Hütchen vorhandenen Flüssigkeitsmenge) hinein pipettiert. Die Proben wurden ca. 30 sec auf unterer Stufe gevortext und für 5 min bei 15.000 UPM zentrifugiert. Die wässrige Phase wurde in neue Hütchen überführt und 10 Vol.% 3 M Natriumacetat (pH 5,2) hinzugegeben. Bei Raumtemperatur wurden die Proben 60 sec lang stehengelassen. Eiskaltes Ethanol in doppelter Menge der enthaltenen Flüssigkeit wurde hinzugegeben. Die Proben wurden für mindestens 60 min bei –20°C inkubiert und dann für 20 min bei 15.000 UPM zentrifugiert. Der Überstand wurde abgesaugt, und das Pellet wurde in 150 µl 70 %igem Ethanol (Raumtemperatur) aufgenommen. Für 10 min wurden die Proben bei 15.000 UPM zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und die Proben 2 min bei Raumtemperatur belassen. Das Pellet wurde in 10 µl TE-Puffer aufgenommen.

2.5 Polymerasekettenreaktion (PCR)

2.5.1 HHV-8-PCR

ORF 26 [31]: 5'Primer: 5' – AGC CGA AAG GAT TCC ACC AT – 3'

3'Primer: 5' – CTG GAC GTA GAC AAC ACG GA – 3'

Sonde [31]: 5' – TGC AGC AGC TGT TGG TGT ACC ACA T – 3'

Alternative Primer zur Verifizierung des positiven DNA-Nachweises:

KS330 [45]: 5'Primer: 5' – ACG GAT TTG ACC CCG TGT TC – 3'

3'Primer: 5' – AAT GAC ACA TTG GTG GTA TA – 3'

ORF 25: sense: 5' – GGA ATT CAG TCA TGG CAC TCG ACA AGA G – 3'

antisense: 5' – CGG ATC CTC GTT AGC GTG GGG AAT ACC AAC – 3'

Master-Mix:

	1-fach
dNTP	2,0 µl
10 × PCR-Puffer	10,0 µl
Primer 1	10,0 µl
Primer 2	10,0 µl
aqua dest.	70,0 µl
Taq pol.	0,5 µl
Gesamt	102,5 µl

95 µl /Ansatz + 5 µl Probe

Amplifikationsparameter:

Thermocycler Perkin Elmer 9200, Methode 24

Programm 20	2 min bei 95°C	HOLD	
Programm 21	30 sec bei 94°C	} 40 Zyklen	
	30 sec bei 55°C		
	1 min bei 72°C		
Programm 22	5 min bei 72°C		
Programm 23	4°C	FOREVER	

2.5.2 β-actin PCR

Primer: 5'Primer: 5' – AGA AGA GCT ACG AGC TGC CTG ACG – 3'

3'Primer: 5' – CTG CAT ACT CCT GCT TGC TGA TCC – 3'

 Primer in Anlehnung an das in-house-Protokoll

Master-Mix:

	1-fach
dNTP	2,0 µl
10 × PCR-Puffer	10,0 µl
Primer 1	10,0 µl
Primer 2	10,0 µl
aqua dest.	70,0 µl
Taq pol.	0,5 µl
Gesamt	102,5 µl

95 µl /Ansatz + 5 µl Probe

Amplifikationsparameter:

Thermocycler Perkin Elmer 9200, Methode 18

Programm 19	5 min bei 95°C	
Programm 15	1 min bei 95°C	
	30 sec bei 60°C	} 40 Zyklen
	10 sec bei 72°C	
	1 min bei 72°C	
Programm 17	4°C FOREVER	

2.6 Southern-Blot

Modifiziertes hauseigenes Protokoll aus verschiedenen anderen Protokollen.

Material:

Denaturierungslösung:

1,5 M NaCl	87 g
0,5 M NaOH	20 g
aqua dest.	ad 1000 ml

Neutralisationslösung (S & S-Protokoll):

3 M Na-Acetat $\times$ 3 H ₂ O (MW 136)	408 g
aqua dest.	ad 600 ml
mit Eisessig auf pH 5,5	
aqua dest.	ad 1000 ml

20 $\times$ SSC (Maniatis S. B.13) [134]:

3,0 M NaCl	175,3 g
0,3 M 3Na-Citrat $\times$ 2H ₂ O	88,2 g
aqua dest.	ad 800,0 ml
mit NaOH auf pH 7,0	
aqua dest.	ad 1000,0 ml
Lösung autoklavieren	

20 % SDS:

Sodiumdodecylsulfat (MW 228)	100 g
aqua dest.	ad 500 ml

0,5 M Natriumphosphatpuffer pH 7,2:

Na ₂ HPO ₄ $\times$ 2 H ₂ O (MW 178)	34,5 g
85 %ige Phosphorsäure	2,0 ml
aqua dest.	ad 500,0 ml

Blotbenetzungspuffer:

0,5 M Na-Phosphat pH 7,2	50 ml
aqua dest.	ad 100 ml

Hybridisierungslösung:

0,5 M EDTA	0,2 ml
20 % SDS	35,0 ml
0,5 M Na-Phosphat	50,0 ml
aqua dest.	ad 100,0 ml
Blocking reagent (Böhringer) erst vor Gebrauch in jeweiliges Volumen zugeben (für eine Membran: 0,15 g Blocking reagent + 15 ml Hybridisierungslösung)	

Waschlösung A: 2 $\times$ SSC, 1 % SDS

20 $\times$ SSC	50,0 ml
20 $\times$ SDS	25,0 ml
aqua dest.	ad 500,0 ml

Waschlösung B: 1 × SSC, 1 % SDS

20 × SSC	25,0 ml
20 × SDS	25,0 ml
aqua dest.	ad 500,0 ml

Waschlösung C: 1 × SSC

20 × SSC	25,0 ml
aqua dest.	ad 500,0 ml

Puffer 1:

100 mM Maleinsäure (MW 116)	11,6 g
150 mM NaCl	8,7 g
aqua dest.	ad 1000,0 ml
pH ad 7,5	

Puffer 2:

Puffer 1 + 0,5 % Blocking reagent (2,5 g auf 500 ml)
(für eine Membran: 40 ml Puffer 1 + 0,2 g Blocking reagent)
Lösung bei 60°C inkubieren

Puffer 3 (Substratpuffer für NBT/BCIP):

1 M Tris-HCl pH 9,5	50,00 ml
100 mM NaCl	2,90 g
50 mM MgCl ₂ × 6 H ₂ O (MW 203)	5,07 g
aqua dest.	ad 500,00 ml

Durchführung:

Die DNA wurde im Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt. Das Gel wurde für 30 min in Denaturierungslösung und zweimal für je 15 min in Neutralisationslösung auf einem Schüttler inkubiert. Eine Nylonmembran (Schleicher & Schüll Nytran-Membran Nr. NY 13 N (0,45 µm)) wurde kurz in destilliertem Wasser und anschließend mindestens 5 min in 10 x SSC inkubiert. Die Transferkammer wurde nach Maniatis gebaut (Abb. 4) [134]. Als Transferpuffer wurde 10 x SSC verwendet. Der Transfer lief über Nacht.

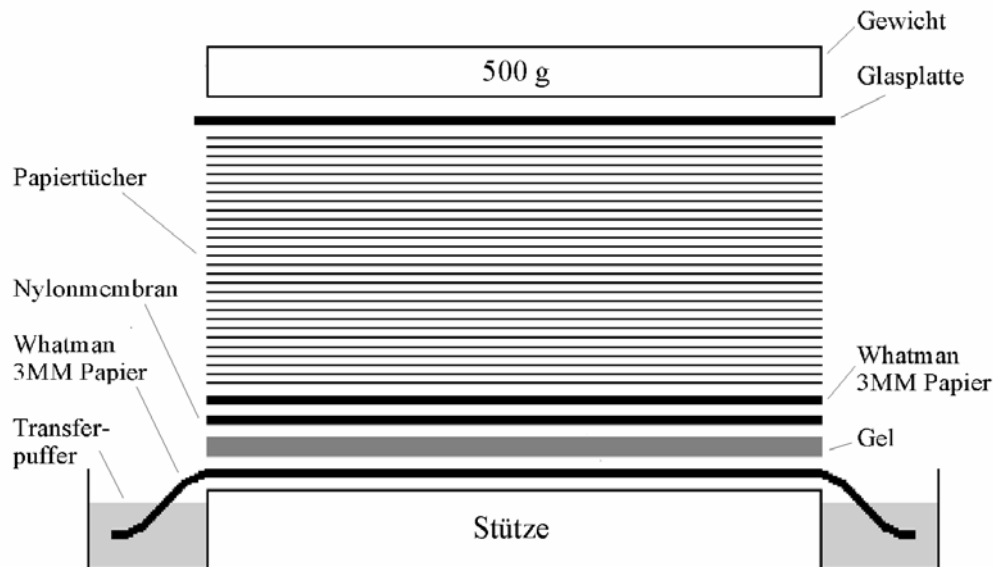


Abb. 4: Transferkammer nach Maniatis [134]

Am nächsten Morgen wurde das Gel unter UV-Licht auf DNA-Rückstände kontrolliert. Die Membran wurde UV-Licht ($0,5 \text{ J/cm}^2$) ausgesetzt, um die DNA quervernetzen, und dann kurz in Blotbenetzungspuffer inkubiert.

Prähybridisierung

Die Nylonmembran wurde in eine Tüte gelegt, 10 ml Hybridisierungslösung hinzugegeben. Die Tüte wurde verschweißt und in ein Wasserbad (37°C) gelegt. Nach 45 min wurde die Tüte entnommen, geöffnet und die Lösung komplett entfernt.

Hybridisierung

In die Tüte wurden 2,5 ml Hybridisierungslösung und 10 μl Biotin-Sonde pipettiert. Die Tüte wurde verschweißt und im Wasserbad (37°C) inkubiert. Nach 2 Stunden wurde die Tüte entnommen, geöffnet und die Membran herausgeholt. Die Membran wurde nun zweimal jeweils 5 min bei Raumtemperatur in der Waschlösung A, danach für zweimal jeweils 15 min bei 37°C in vorgewärmter Waschlösung B und zum Schluß zweimal jeweils 5 min bei Raumtemperatur in Waschlösung C auf einem langsam rotierenden Schüttler inkubiert.

Immunologischer Nachweis

Alle Inkubationen erfolgten bei Raumtemperatur. Die Membran wurde ca. 60 sec in Puffer 1 gewaschen und dann für 30 min in 40 ml Puffer 2 inkubiert. Es wurden 10 µl des spezifischen Antikörpers Streptavidin-AP mit 35 ml Puffer 1 vermischt, um die gewünschte Verdünnung von 1:3500 herzustellen. Die Membran wurde für 30 min in dieser Lösung inkubiert. Danach wurde die Membran zweimal jeweils 15 min mit Puffer 1 gewaschen. Zur Herstellung des Substrats wurden 1% Lösung 1 (NBT) und 1% Lösung 2 (BCIP) in Puffer 3 pipettiert. Die Membran wurde mit dem Substrat in einem verschlossenen Gefäß im Dunkeln bis zu einem Tag inkubiert, wobei darauf geachtet wurde, daß das Gefäß nicht geschüttelt wurde.

2.7 Nested-PCR

Äußere Primer [31]:

ORF 26: 5'Primer: 5' – AGC CGA AAG GAT TCC ACC AT – 3'

3'Primer: 5' – CTG GAC GTA GAC AAC ACG GA – 3'

Innere Primer [45]:

KS330: 5'Primer: 5' – ACG GAT TTG ACC CCG TGT TC – 3'

3'Primer: 5' – AAT GAC ACA TTG GTG GTA TA – 3'

Alternative Primer zur Verifizierung des positiven DNA-Nachweises:

Äußere Primer [147]:

ORF 22A: 5'Primer: 5' – TAA TCA CCT AGA GGA TCC ATG CAG GGT CTA G – 3'

ORF 22B: 3'Primer: 5' – ATC TAC GCT TTA GCG GCC GCC TAA TAA AGG ATG G – 3'

Innere Primer [147]:

ORF 22C: 5'Primer: 5' – ATT GGC AAC AAC GAG TCC – 3'

ORF 22D: 3'Primer: 5' – CCA ACA TCT GAA ACA ACA CC – 3'

Master-Mix:

	1-fach
dNTP	2,0 µl
10 × PCR-Puffer	10,0 µl
Primer 1	10,0 µl
Primer 2	10,0 µl
aqua dest.	70,0 µl
Taq pol.	0,5 µl
Gesamt	102,5 µl

95 µl /Ansatz + 5 µl Probe

Amplifikationsparameter:

Thermocycler Perkin Elmer 9200, Methode 24

Programm 20	2 min bei 95°C	HOLD	
Programm 21	30 sec bei 94°C		} 40 Zyklen
	30 sec bei 55°C		
	1 min bei 72°C		
Programm 22	5 min bei 72°C		
Programm 23	4°C	FOREVER	

2.8 Real-time-PCR

2.8.1 Prinzip der Real-time TaqMan™ PCR

Im Gegensatz zur konventionellen PCR ermöglicht die Real-time-PCR-Technologie die simultane Durchführung der Amplifikation sowie der Detektion in einem Reaktionsgefäß. Dem Verfahren liegt der Anfang der 90'er Jahre beschriebene 5' Nuklease assay [59] zugrunde, bei dem man sich die 5' Exonukleaseaktivität der Taq-Polymerase zunutze macht. Der 1993 von der Firma Applied Biosystems entwickelte TaqMan™ PCR Assay verwendet als Sonde ein Oligonukleotid, dessen 5' Ende mit dem Fluoreszenz-Reporter-Farbstoff (Fluoreszein-Derivat,

zumeist 6-Carboxy-Fluorescein, FAM) und dessen 3' Ende mit einem Quencher-Farbstoff (Rhodamin-Derivat, zumeist 6-Carboxy-tetramethyl-rhodamin, TAMRA) markiert ist.

Die räumliche Nähe von Reporter und Quencher auf der intakten Sonde bewirkt, daß bei Anregung mit einer Wellenlänge von 488 nm kein Signal entstehen kann. Während der Annealing-Phase hybridisiert die Sonde zusammen mit den Primern an der Matrize. In der Extensionsphase verdrängt die Taq-Polymerase die Sonde, die dabei hydrolysiert wird. Das dabei entstehende Fluoreszenzsignal wird von der CCD-Kamera gemessen. Da dies bei jedem der normalerweise 40-45 Zyklen geschieht, erhält man quasi online ein Meßsignal, das proportional zum entstandenen PCR-Produkt ist. Da die Sonde exakt auf ein Primer-Paar abgestimmt sein muß, und die spezielle Synthese damit recht teuer ist, gibt es als Alternative für die Erzeugung von Fluoreszenzsignalen die Verwendung von DNA-Farbstoffen, die sich sequenz-unabhängig an jede Form von doppelsträngiger DNA anlagern. Statt des klassischen DNA-Farbstoffs Ethidiumbromid verwendet man dabei zumeist das Sybr-Green, das sich in die kleine Grube der DNA-Doppelhelix ("minor-groove Farbstoff") interkaliert.

□

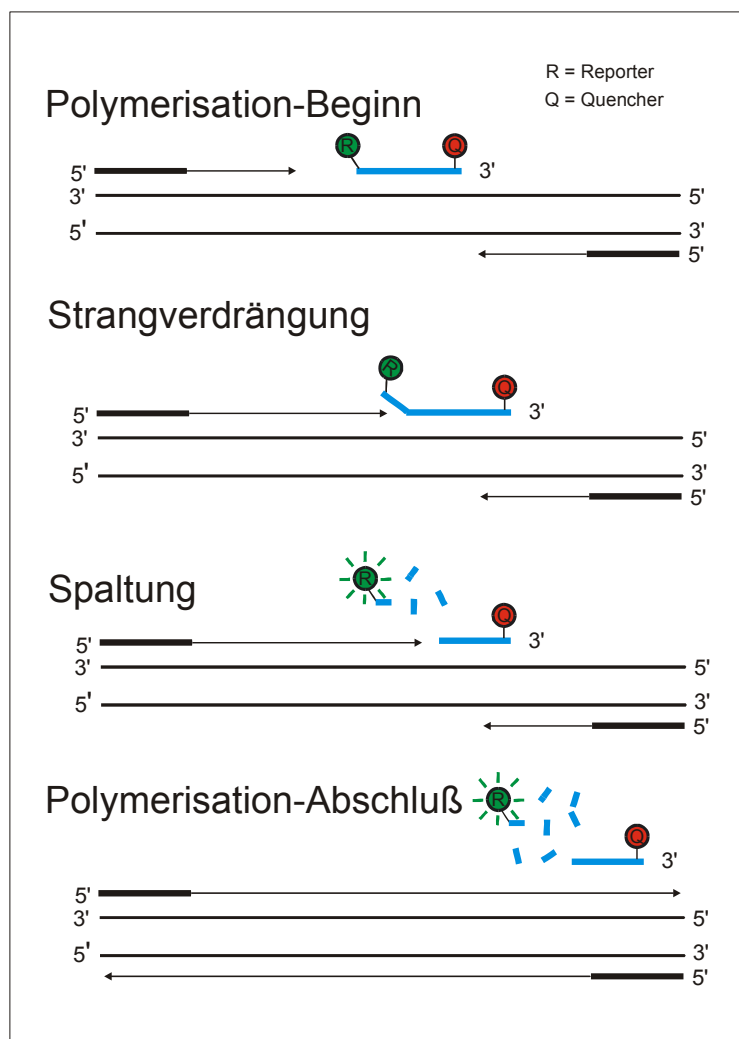


Abb. 5: Schema der Real-time TaqMan-PCR. Als entscheidende Modifikation gegenüber der konventionellen PCR ist der Einsatz einer fluoreszenz-markierten Sonde zu sehen, die am 5' Ende als Reporter (R) einen FAM-Farbstoff und am 3' Ende als Quencher (Q) einen TAMRA-Farbstoff besitzt. Die Sonde wird direkt bei der Amplifikation zugesetzt und bei der Polymerisation durch die Exonukleaseaktivität der Taq-Polymerase zerstört. Die dabei erfolgende räumliche Trennung von Reporter und Quencher erzeugt ein meßbares Signal, das von der CCD-Kamera des Gerätes gemessen wird.

Entscheidend für Quantifizierungsstrategien ist dabei nicht die Stärke des Signals, das in den meisten Fällen vor den letzten Zyklen ein Plateau erreicht, sondern die Kinetik des Anstiegs. Dabei geht als Meßgröße ein, bei welchem Zyklus das Fluoreszenz-Signal einen vorgegebenen Schwellenwert übersteigt (CT = threshold cycle). In Abhängigkeit von der Menge an Matrize, die zu Beginn der Amplifikation vorlag, verschiebt sich dieser Wert mit steigender Menge zu einem früheren Zyklus (niedriger CT-Wert) und umgekehrt. Bei einer optimal verlaufenden Reaktion sollte sich die Menge an Amplifikaten mit jedem Zyklus verdoppeln, d.h. mathematisch kann die PCR beschrieben werden mit der Gleichung:

$$Y = X(1+E)^n$$

wobei **Y** die Menge an Amplicons, **X** die Startkopienzahl zu Beginn der PCR, **E** die Effizienz der Reaktion (im Idealfall 1.0) und **n** die Anzahl der PCR-Zyklen ist. Da die Effizienz von den Reaktionsbedingungen (Primerauswahl, Ampliconlänge, Qualität der Polymerase etc.) abhängt, ist es zur Quantifizierung notwendig, bei jedem Experiment eine definierte Menge an sequenzspezifischem DNA-Standard in mehreren Verdünnungsstufen mitgetestet wird, um eine Standardkurve erstellen zu können.

2.8.2 Materialien und Durchführung

Die Auswahl der Primer erfolgte mit Hilfe der Software „Primer Express“ der Firma Applied Biosystems.

Sense-primer: HHV8ORF26F
 CAA CGG ATT TGA CCT CGT GTT

Auf Endkonzentration von 3 µM mit Minimum sterile Buffer einstellen.

Anti-sense-primer: HHV8ORF26R
 TGC TGC AGA ATA GCG TGC C

Auf Endkonzentration von 6 µM mit Minimum sterile Buffer einstellen.

TaqMan PCR Sonde: HHV8B

FAM - CCA TGG TCG TGC CGC AGC A - *TAMRA*

Auf Endkonzentration von 1 μ M mit Minimum sterile Buffer einstellen.

Minimum sterile Buffer (1 mM Tris-HCl pH 8 / 0,01 mM EDTA):

1M Tris-HCl pH 8	50 μ l
0,5 M EDTA	1 μ l
aqua dest.	ad 50 ml

Master-Mix:

	1-fach
PCR-Uni-Mix	25 μ l
Primer F	5 μ l
Primer R	5 μ l
Sonde	5 μ l
aqua dest.	5 μ l
Gesamt	45 μ l

45 μ l / Ansatz + 5 μ l Probe

Amplifikationsparameter:

Thermocycler Perkin Elmer 7700 oder 5700, Standardprogramm

Cycle	Temperatur [°C]	Zeit [min]	Wiederholung	Ramp
HOLD	50,00	2:00		Auto
HOLD	95,00	10:00		Auto
CYCLE	95,00	0:15	40	
	60,00	1:00		Auto

Abb. 6 zeigt die Lokalisation der TaqMan-PCR-Primer am HHV-8-Plasmid (siehe Abb. 7).

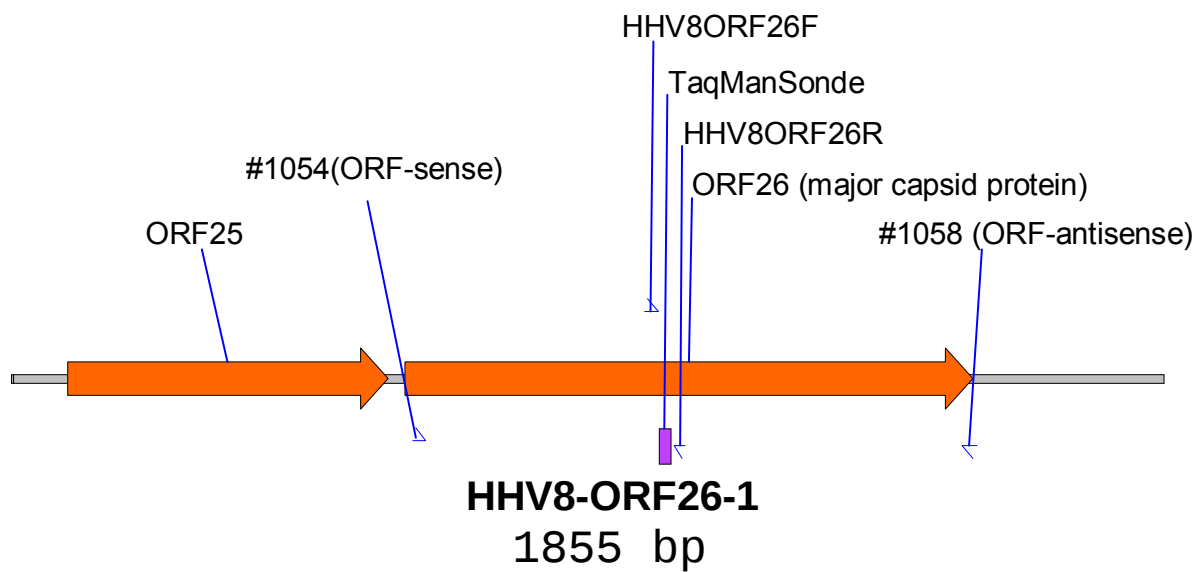


Abb. 6: Lokalisation der TaqMan-PCR-Primer am Plasmid

2.9 Herstellung von rekombinanten HHV-8-kodierenden Plasmiden

2.9.1 Ligation

Vektor: pSGpNIA1 tat (modifiziert nach pSG-Vektor von Stratagene[®])

Insert: PCR-Produkt

Eco RI geschnitten

Ansatz:

pSGpNIA1 tat	1 µl (=1 µg)
Bam HI	1 µl
one for all buffer	1 µl
aqua dest.	7 µl

Dieser Ansatz wurde für eine Stunde bei 37°C inkubiert.

Dann wurden folgende Substanzen zugegeben:

2,5 mM dNTP-Mix	1 µl
one for all buffer	1 µl
Klenow Polymerase (2 U/µl)	1 µl
aqua dest.	7 µl

Es wurde für 10 min bei 37°C und danach für 15 min bei 68°C inkubiert. Anschließend wurde 1µl Eco RI zugegeben und für eine Stunde bei 37°C inkubiert.

Ansatz 1:

pSGpNIA1 tat	1 µl
Eco RI	1 µl
Bam HI	1 µl
Puffer B	2 µl
aqua dest.	15 µl

Ansatz 2:

PCR-Produkt	5 µl
Eco RI	1 µl
Puffer B	2 µl
aqua dest.	12 µl

Beide Ansätze wurden für eine Stunde bei 37°C inkubiert und anschließend in einem 1,2 %igen Low-Melt-Gel aufgetrennt. Nach der Auftrennung wurden die Banden ausgeschnitten und getrennt aufgelöst.

Ligationsansatz:

Bande Vektor	1 µl
Bande Insert	1 µl
T4-Ligase	1 µl
10× Puffer	2 µl
aqua dest.	15 µl

Der Ligationsansatz wurde eine Stunde bei 37°C und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur inkubiert.

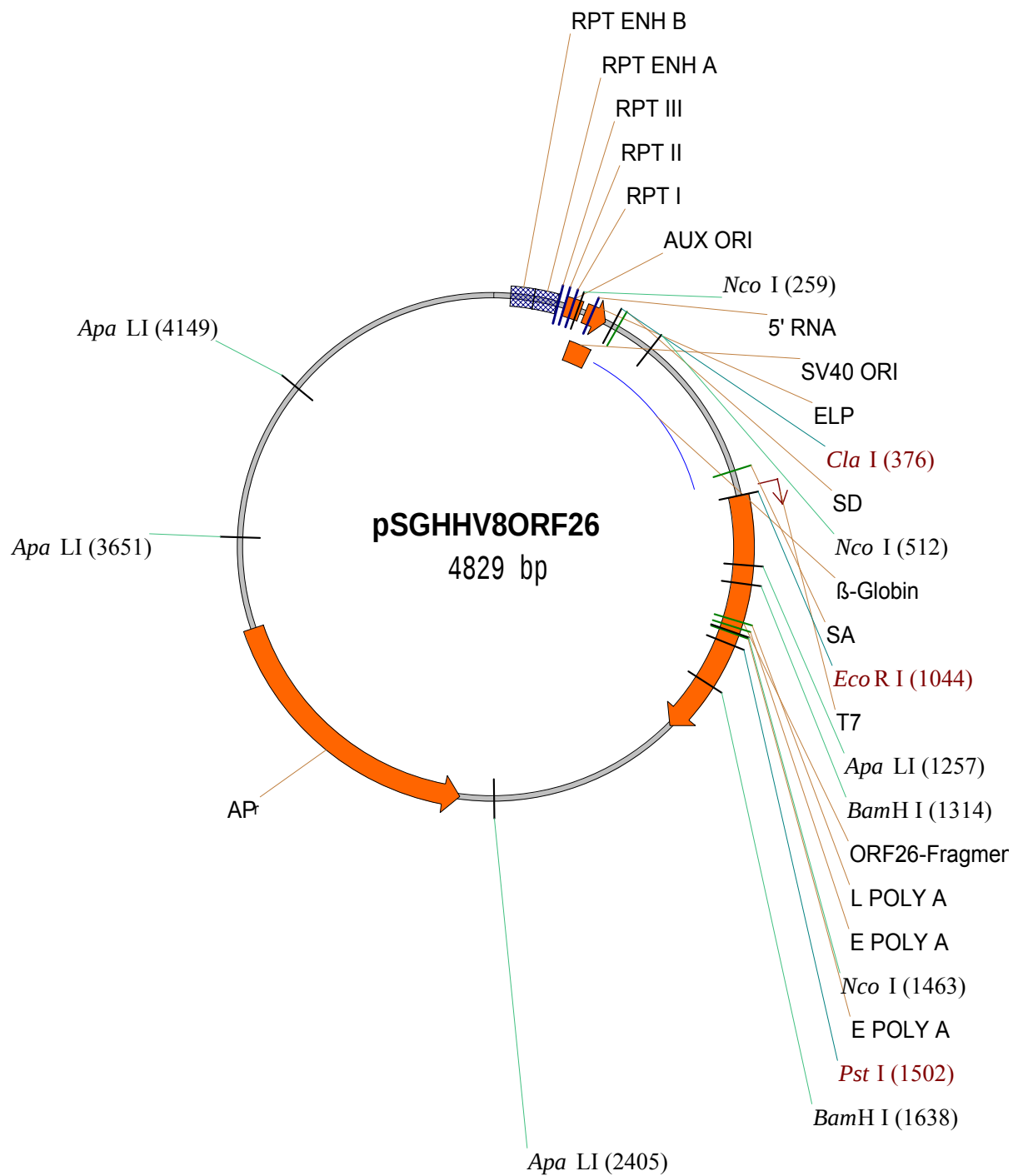


Abb. 7: HHV-8-Plasmid (pSGHHV8ORF26)

2.9.2 Transfektion

Material:

Medium:

SOB-Medium	1 ml
2 M MgCl ₂	5 µl
1 M Glukose	20 µl

Durchführung:

Die kompetenten Zellen wurden für 10 min auf Eis gelegt. Es wurden 5 µl des Ligationsansatzes hinzugegeben und die Proben für weitere 10 min auf Eis gelegt. Dann wurden die Proben für 90 sec bei 42°C inkubiert und im Anschluß für 90 sec auf Eis gelegt. Die Proben wurden zusammen mit 0,8 ml Medium in Röhren überführt und für 60 min bei 37°C auf einem Schüttler inkubiert. Der Inhalt wurde auf LB-Amp-Platten ausgestrichen.

2.9.3 Mini-Präparation von Plasmid-DNA

Lösungen:

P1 (50 mM Tris-HCl pH 8,0 / 10 mM EDTA / RNase A (100 µg/ml)):

1 M Tris-HCl pH 8,0	5 ml
0,5 M EDTA	2 ml
RNase A (10 mg/ml)	1 ml
aqua bidest.	ad 100 ml

P2 (0,2 M NaOH / 1 % SDS):

2 M NaOH	10 ml
10 % SDS	10 ml
aqua bidest.	ad 100 ml

P3: 2,55 M Kaliumacetat pH 4,8

Durchführung:

Von der Bakteriensuspension wurden ca. 1,5 ml in Eppendorfhütchen überführt. Diese wurde bei Raumtemperatur für 60 sec bei 15.000 UPM zentrifugiert. Der entstandene Überstand wurde abgesaugt und 300 µl der Lösung P1 hinzugegeben. Die Hütchen wurden für ca. 30 sec auf einen Schüttler gestellt, um das Pellet zu lösen. Danach wurden 300 µl der Lösung P2 hinzupipettiert. Bei Raumtemperatur wurden die Proben für 5 min inkubiert, wobei sie zwischenzeitlich vorsichtig geschwenkt wurden. Es wurden 300 µl der Lösung P3 hinzugegeben und die Hütchen ca. 10 mal kopfüber geschwenkt. Bei 4°C wurden die Proben für 15 min bei 15.000 UPM zentrifugiert. In der Zwischenzeit wurden jeweils 640 µl Isopropanol in neue Eppendorfhütchen pipettiert. Der durch die Zentrifugation entstandene Überstand wurde vorsichtig, ohne das Präzipitat zu berühren, in die vorbereiteten Eppendorfhütchen überführt, wobei die Pipettenspitze nicht in das Isopropanol eingetaucht wurde. Bei Raumtemperatur wurde für 15 min bei 15.000 UPM zentrifugiert. Der Überstand wurde abgesaugt und 100 µl 70 %iges Ethanol zugegeben. Bei Raumtemperatur wurde für 15 min bei 15.000 UPM zentrifugiert. Das entstandene Pellet wurde in 50 µl TE-Puffer aufgenommen.

2.9.4 Maxi-Präparation von Plasmid-DNA

Qiagen® Plasmid Maxi Kit Nr. 12163

Von der Platte wurden einzelne Kolonien entfernt und jeweils in Reagenzgläser mit 2 – 5 ml LB-Medium und ausreichender Menge selektivem Antibiotikum (Ampicillin) überführt. Diese wurden für etwa 8 Stunden bei 37°C auf einem Schüttler inkubiert. Nach dieser Zeit wurden die Kulturen in 100 ml bzw. 150 ml selektivem LB-Medium 1/1000 verdünnt und verblieben für 12 – 16 Stunden bei 37°C auf einem Schüttler. Bei 4°C wurden die Proben dann für 15 min bei 6000 × g zentrifugiert. Der entstandene Überstand wurde verworfen und das Pellet in 10 ml Puffer P1 aufgenommen. Durch Vortexen der Proben wurde das Pellet vollständig in Lösung gebracht. Es wurden 10 ml Puffer P2 hinzupipettiert und vorsichtig gemischt, indem die Reaktionsgefäße 4 – 6 mal invertiert wurden. Die Proben wurden für 5 min bei Raumtemperatur inkubiert. Es wurden 10 ml eisgekühlten Puffer P3 hinzugegeben und sofort nach der Zugabe vorsichtig durch 4 – 6 maliges Invertieren gemischt. Die Proben wurden 15 – 20 min auf Eis gelegt und dann erneut kurz gemischt. Bei 4°C wurde für 30 min bei $\geq 20.000 \times g$ zentrifugiert. Sogleich nach der

Zentrifugation wurde der Überstand, der die Plasmid-DNA enthält, abpipettiert und erneut bei 4°C für 15 min bei $\geq 20.000 \times g$ zentrifugiert. Währenddessen wurden die Qiagen-tips vorbereitet, indem 10 ml Puffer QBT hineingegeben und gewartet wurde, bis die Säule leergelaufen war. Der durch die Zentrifugation entstandene Überstand wurde sofort nach deren Ende in die vorbereiteten Qiagen-tips pipettiert. Es wurde gewartet, bis die Säule leergelaufen und die Plasmid-DNA in das Qiagen-„Harz“ eingedrungen war. Anschließend erfolgte die zweimalige Waschung der Qiagen-tips mit jeweils 30 ml Puffer QC. Zur Elution der DNA wurden 15 ml Buffer QF verwendet. Der Durchlauf wurde aufgefangen, und zur Präzipitation der DNA wurden 10,5 ml 100 %iges Isopropanol (Raumtemperatur) hinzugegeben, so daß eine Endkonzentration von ca. 70 % resultiert. Direkt danach wurden die Proben gemischt und bei 4°C für 30 min bei $\geq 15.000 \times g$ zentrifugiert. Der entstandene Überstand wurde vorsichtig dekantiert. Das Pellet wurde mit 5 ml 70 %igem Ethanol (Raumtemperatur) gewaschen und dann für 10 min bei $\geq 15.000 \times g$ zentrifugiert. Der Überstand wurde vorsichtig dekantiert. Für 10 – 15 min wurde das Pellet an der Luft getrocknet und dann in 200 µl TE-Puffer (pH 8,0) aufgenommen.

3 Resultate

3.1 Stimulationsversuch und Immunfluoreszenztest

Stimulationsversuch zur Induktion des lytischen Zellzyklus [16]:

Zellen: BCBL-1 in jeweils 25 ml RPMI (10 % FKS); stehend

Stimulation:

1. Kontrolle
2. Zugabe von 100 µl IL-6 (50.000 U/ml) → = 200 U/ml
3. Zugabe von 2,5 µl PE (200 µg/ml) → = 20 ng /ml
4. Zugabe von 100 µl IL-6 und 2,5 µl PE

Zellzählung:

	Beginn	1. Tag	2. Tag	3. Tag
Kontrolle	8/13/16/6 = 11	5/14/8/9 = 9	3/12/10/7 = 8	6/14/8/6 = 9
+ IL-6		18/13/18/14 = 16	9/20/6/6 = 10	6/11/14/11 = 11
+ PE		3/4/5/14 = 7	5/4/5/6 = 5	5/8/7/8 = 7
+ IL-6 + PE		9/7/12/8 = 9	13/5/5/7 = 8	12/7/8/5 = 8

Im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollzellen konnte nach Zugabe von IL-6 vor allem nach einem Tag eine deutliche Proliferationszunahme beobachtet werden: Während die Zahl der Kontrollzellen leicht abnahm, zeigte sich nach Zugabe von IL-6 eine Zunahme der Zellzahl. Durch die Zugabe von PE kam es bei den Zellen zu einer Abnahme der Zellzahl bedingt durch PE-induzierten Zelltod. Dieser konnte durch die kombinierte Zugabe von IL-6 und PE reduziert werden, so daß sich ähnliche Zellzahlen wie bei den Kontrollzellen fanden.

Es wurden im Anschluß an den Stimulationsversuch die vier unterschiedlich behandelten BCBL-1-Zellen jeweils im IFA mit unterschiedlichen Seren getestet. Wie in Abb. 8 zu erkennen ist, konnten mit den sowohl mit PE als auch mit IL-6 behandelten Zellen die besten Ergebnisse erzielt werden. Im weiteren wurden die Untersuchungen mit den mit PE und IL-6 behandelten BCBL-1-Zellen durchgeführt. Somit handelt es sich bei dem für die Screeninguntersuchungen verwendeten IFA um einen Antikörpersuchtest gegen lytische Antigene. Charakteristisch für die Positivität bei dem IFA gegen lytische Antigene ist eine zytoplasmatische Fluoreszenz [77] im Gegensatz zur charakteristischen Kernfluoreszenz des IFA gegen latente Antigene [102,156].

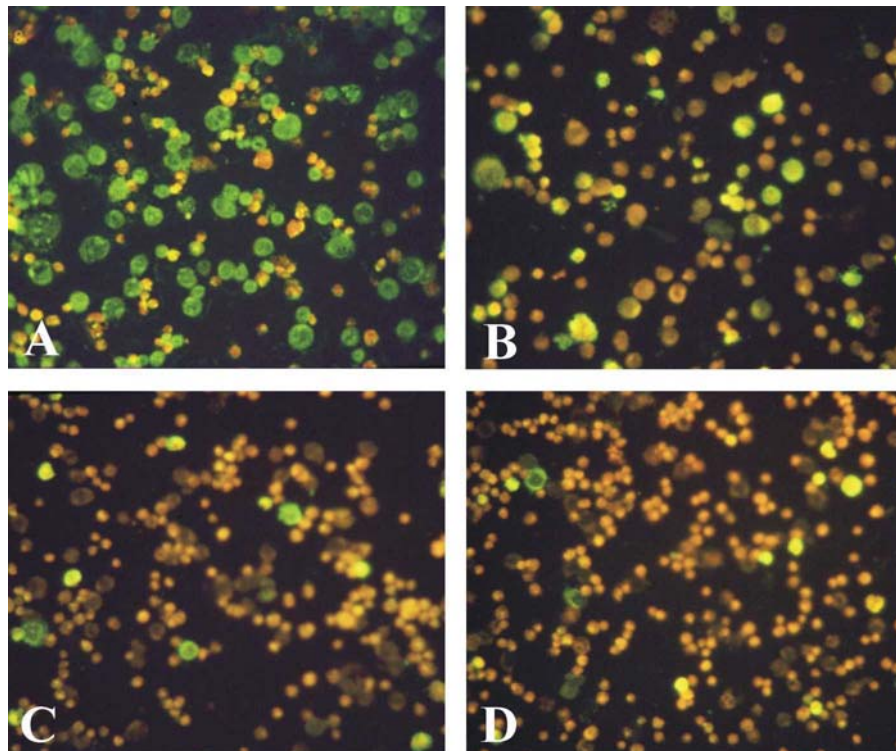


Abb. 8: HHV-8-Immunfluoreszenztest (IFA): A + B: BCBL-1-Zellen nach Stimulation mit Phorbol ester und IL-6, C: BCBL-1-Zellen nach Stimulation mit IL-6, D: BCBL-1-Zellen ohne Stimulation, A = HHV-8-IgM-positives Serum, B – D = HHV-8-IgG-positives Serum

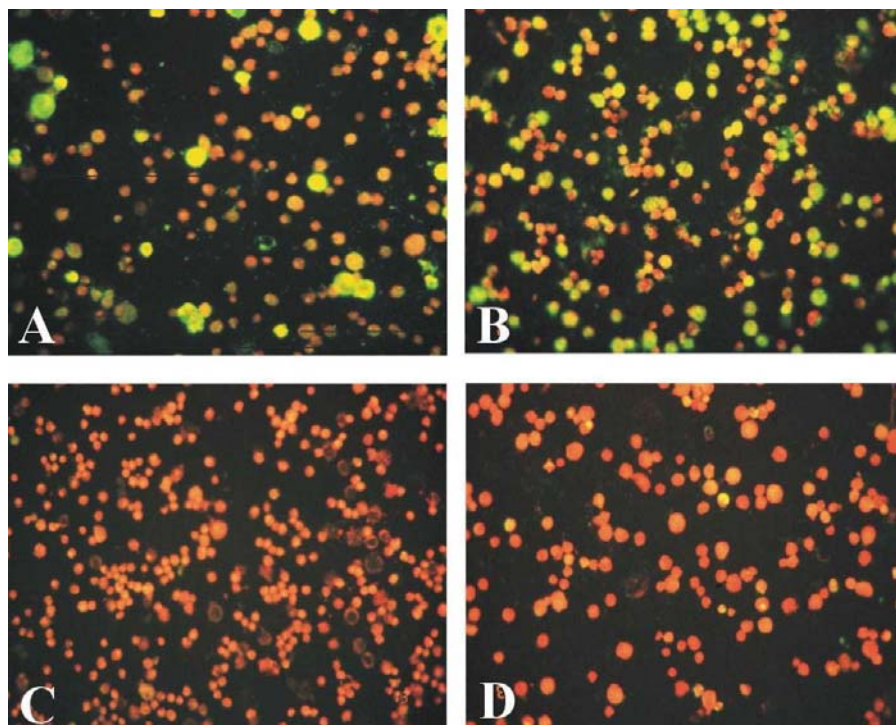


Abb. 9: HHV-8-Immunfluoreszenztest (IFA): A - D: BCBL-1-Zellen nach Stimulation mit Phorbol ester und IL-6, A: positive Kontrolle des HHV-8-IgG-IFA, B: positive Kontrolle des HHV-8-IgM-IFA, C: negative Kontrolle des HHV-8-IgG-IFA, D: negative Kontrolle des HHV-8-IgM-IFA

Wie in Abb. 9 zu erkennen ist, lassen sich sowohl im IgG- als auch im IgM-IFA keine unspezifischen Reaktionen finden. Als positiv im Hinblick auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen lytische Antigene ist die zytoplasmatische Fluoreszenz zu werten.

3.2 β -actin-PCR

Die β -actin-PCR diente dem Nachweis von PCR-Inhibitoren.

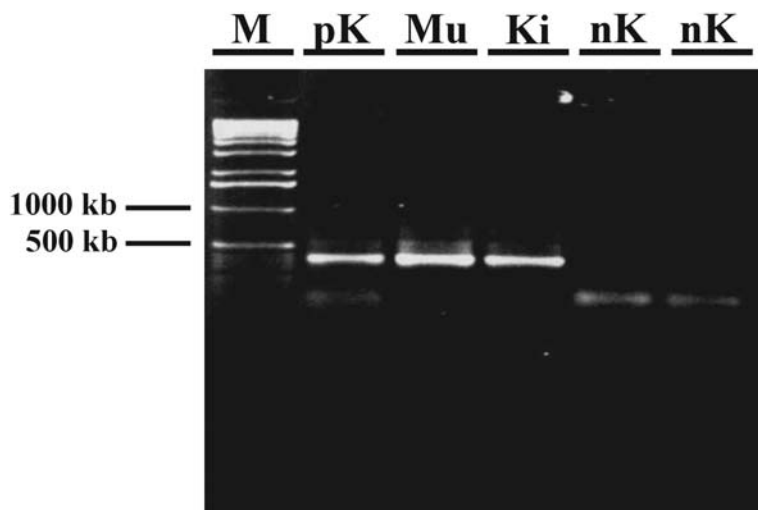


Abb. 10: β -actin-PCR-Ergebnis der Untersuchung von mütterlichem Blut und kindlichem Nabelschnurblut, M = kb-Marker, pK = positive Kontrolle, Mu = Mutter, Ki = Kind, nK = negative Kontrolle

Durch das positive Ergebnis der Untersuchung des mütterlichen Blutes kann das Vorhandensein von PCR-Inhibitoren, die zu einem falsch negativen Ergebnis der nested-PCR führen, ausgeschlossen werden (vgl. Abb. 10).

3.3 Nested-PCR

3.3.1 Empfindlichkeit der nested-PCR

Die Empfindlichkeit der nested-PCR wurde anhand einer Verdünnungsreihe des hergestellten HHV-8-Plasmids (siehe Abb. 7) ausgetestet.

Vektor: 4700 bp

Insert: 787 bp

$\overline{4887 \text{ bp}} \approx 4,9 \text{ kb}$ (Konzentration: 1 $\mu\text{g} / \mu\text{l}$)

$$M = 4900 \text{ bp} \times 660 \text{ daltons /bp} = 3,234 \times 10^6 \text{ daltons}$$

$$\text{pmol} / \mu\text{g} : 10^6 \text{ pg} / \mu\text{g} \times \frac{1}{660 \times 4900} \text{ pmol} / \text{pg} = 0,31 \text{ pmol} / \mu\text{g}$$

$$\mu\text{g} / \text{pmol} : (660 \times 4900) \text{ pg} / \text{pmol} \times \frac{1}{10^6} \mu\text{g} / \text{pg} = 3,234 \mu\text{g} / \text{pmol}$$

$$\text{Moleküle} / \mu\text{g} : 6,022 \times 10^{11} \text{ Moleküle} / \text{pmol} \times 0,31 \text{ pmol} / \mu\text{g} = \underline{1,86 \times 10^{11} \text{ Moleküle} / \mu\text{g}}$$

Das Plasmid wurde in einer Konzentration von 1 $\mu\text{g} / \mu\text{l}$ eingesetzt und in einer logarithmischen Verdünnungsreihe bis zu einer Verdünnungsstufe von 10^{-12} verdünnt. Die Nachweisbarkeitsgrenze lag bei einer Verdünnungsstufe von 10^{-10} .

Daraus resultiert eine Empfindlichkeit der nested-PCR von etwa 20 Molekülen/ μl .

3.3.2 Ergebnis der nested-PCR

Die nested-PCR-Untersuchung auf HHV-8-DNA ergab bei einem Neugeborenen einen positiven Nachweis, bei seiner Mutter konnte jedoch keine HHV-8-DNA nachgewiesen werden (siehe Abb. 11). Bezüglich der äußeren Primer für die erste Runde (ORF 26) und der inneren Primer für die zweite Runde (KS330) siehe auch 2.7.

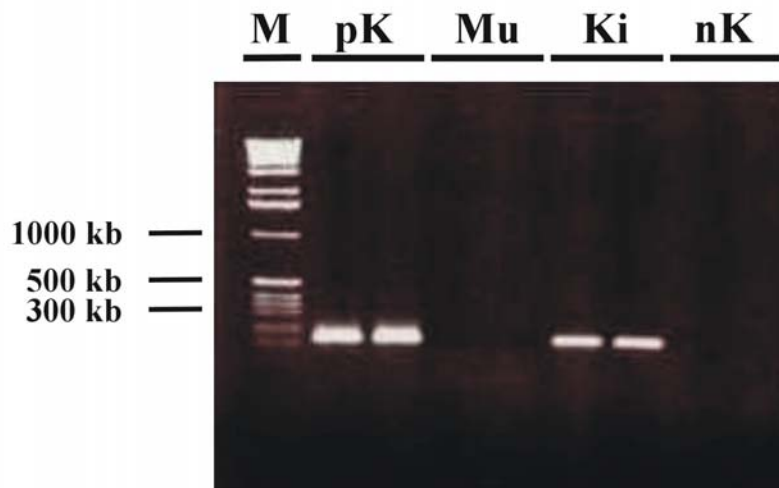


Abb. 11: HHV-8-nested-PCR-Ergebnis der Untersuchung von mütterlichem Blut und kindlichem Nabelschnurblut im Doppelansatz, M = kb-Marker, pK = positive Kontrolle, Mu = Mutter, Ki = Kind, nk = negative Kontrolle

3.4 Real-time-PCR

Die Real-time-PCR diente als Alternativmethode zur nested-PCR und für weitere Screeninguntersuchungen an kindlichem Nabelschnurblut. Der Nachweis von HHV-8-DNA gelang hierbei nicht. Die Empfindlichkeit der Real-time-PCR lag bei weniger als 50 Kopien.

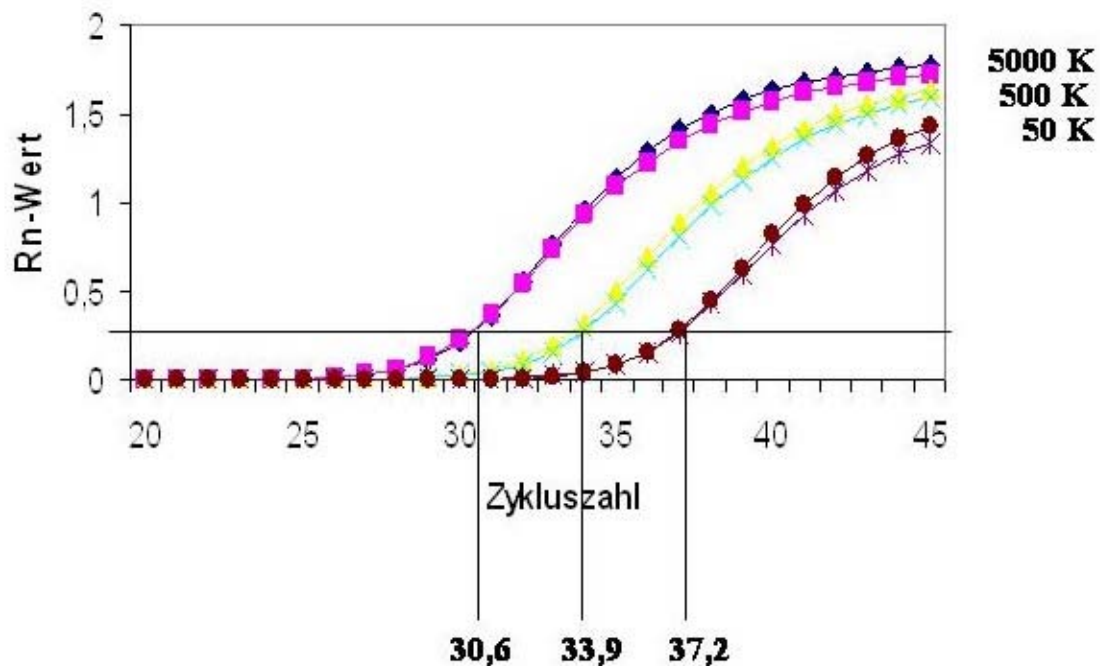


Abb. 12: Ergebnis der HHV-8-Real-time-PCR des Plasmids

3.5 Southern Blot

Der Southern Blot wurde zunächst für den Nachweis von HHV-8-DNA genutzt, zeigte sich im Vergleich zur nested-PCR aber weniger bzw. zu wenig empfindlich für den Nachweis von HHV-8-DNA aus Vollblut der Patienten.

Wie in Abb. 13 zu erkennen ist, konnte bei Patientenprobe 7 (aus Vollblut isolierte Virus-DNA) lediglich durch nested-PCR HHV-8-DNA nachgewiesen werden. Im Southern Blot zeigte sich dieselbe Probe negativ.

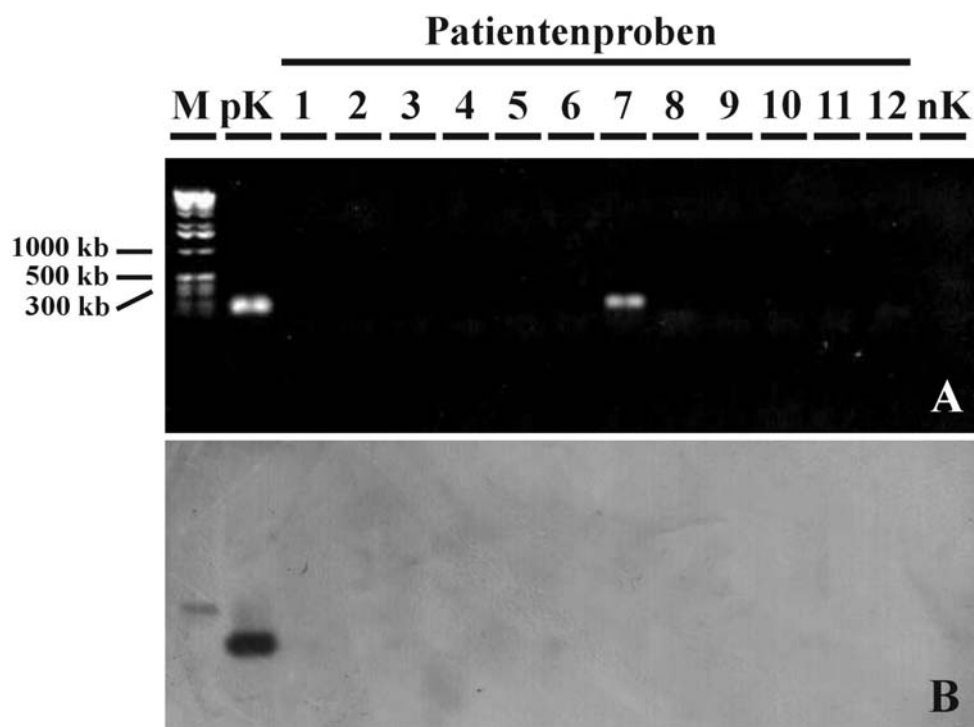


Abb. 13: Ergebnisse der nested-PCR (A) versus Ergebnisse des Southern Blot (B) mit äquivalenten Proben, M = kb-Marker, pK = positive Kontrolle (HHV-8-DNA aus BCBL-1-Zellen), 1 – 12 = Patientenproben (Virus-DNA isoliert aus Vollblut der Patienten), nK = negative Kontrolle

Aufgrund der zu geringen Sensitivität gelangte der Southern Blot für die weiteren Untersuchungen von Patientenproben nicht mehr zum Einsatz.

3.6 Seroprävalenz des HHV-8 in den untersuchten Kollektiven

Die HHV-8-Seroprävalenzen in den untersuchten Kollektiven wurden mittels des Immunfluoreszenztest zum Nachweis von HHV-8-Antikörpern gegen lytische Antigene (vgl. 3.1) bestimmt, eine serologische Untersuchungsmethode, die sich durch eine hohe Sensitivität auszeichnet (vgl. 4.2).

Die CMV-Seroprävalenzen des Mutter-Kind-Kollektives wurden mittels ELISA bestimmt und aus der Routinediagnostik übernommen.

Für den im folgenden angegebenen Nachweis von HHV-8-DNA gelangte die nested-PCR zur Anwendung.

3.6.1 Seroprävalenz des HHV-8 bei Müttern und Kindern

Es wurden zu Beginn 308 Mütter mittels Immunfluoreszenztest auf Antikörper vom Typ IgG gegen HHV-8 untersucht, wobei 46 (14,9 %) Mütter die gesuchten Antikörper aufwiesen. Diese 46 Mütter und ihre Kinder wurden daraufhin in das zu untersuchende Kollektiv aufgenommen. Die Mütter wurden auf Antikörper vom Typ IgG gegen CMV, auf Antikörper vom Typ IgM gegen HHV-8 und CMV und auf HHV-8-DNA getestet. Bei den Kindern beschränkte sich die Suche auf Antikörper vom Typ IgG und IgM gegen HHV-8 und auf HHV-8-DNA.

Die Ergebnisse sind in Tab. 8 aufgeführt.

	Alter 1999	HHV8- IgG Mutter	HHV8- IgM Mutter	HHV8- DNA Mutter	CMV IgG Mutter	CMV IgM Mutter	HHV8- IgG Kind	HHV8- IgM Kind	HHV8- DNA Kind
1	25	pos.	neg.	neg.	neg.	neg.	pos.	neg.	neg.
2	20	pos.	pos.	neg.	3400	pos.	pos.	neg.	neg.
3	25	pos.	pos.	neg.	9600	neg.	neg.	neg.	–
4	36	pos.	pos.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	–
5	29	pos.	neg.	neg.	22000	grenz.	pos.	neg.	neg.
6	23	pos.	neg.	neg.	neg.	neg.	pos.	neg.	neg.
7	35	pos.	pos.	neg.	neg.	neg.	pos.	neg.	neg.
8	24	pos.	pos.	neg.	neg.	neg.	pos.	neg.	neg.
9	31	pos.	neg.	neg.	13000	neg.	pos.	neg.	neg.
10	23	pos.	neg.	neg.	5800	neg.	pos.	neg.	neg.
11	29	pos.	neg.	neg.	4900	neg.	pos.	neg.	neg.
12	26	pos.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
13	38	pos.	neg.	neg.	neg.	neg.	pos.	neg.	neg.
14	37	pos!	pos.	neg.	14000	neg.	pos.	neg.	pos.
15	31	pos.	neg.	neg.	4200	neg.	pos.	neg.	neg.
16	28	pos.	neg.	neg.	neg.	neg.	pos.	neg.	neg.
17	32	pos.	neg.	neg.	19000	neg.	pos.	neg.	neg.
18	34	pos.	neg.	neg.	11000	neg.	pos.	neg.	neg.
19	41	pos.	neg.	neg.	7400	neg.	pos.	neg.	neg.
20	23	pos.	pos.	neg.	2200	neg.	pos.	neg.	neg.
21	28	pos.	pos.	neg.	16000	neg.	pos.	neg.	neg.
22	31	pos.	neg.	neg.	4000	neg.	pos.	neg.	neg.
23	31	pos.	neg.	neg.	neg.	neg.	pos.	neg.	neg.
24	36	pos.	pos.	pos.	9100	pos.	pos.	neg.	neg.
25	35	pos.	neg.	neg.	640	neg.	pos.	neg.	neg.
26	32	pos.	neg.	neg.	5000	neg.	pos.	neg.	neg.
27	42	pos.	neg.	neg.	12000	neg.	pos.	neg.	neg.
28	24	pos.	pos.	neg.	1000	neg.	pos.	neg.	neg.
29	36	pos.	neg.	neg.	990	neg.	pos.	neg.	neg.
30	30	pos.	neg.	neg.	1000	neg.	pos.	neg.	neg.
31	38	pos.	neg.	pos.	1600	neg.	pos.	neg.	neg.
32	24	pos.	neg.	neg.	2400	neg.	pos.	neg.	neg.
33	24	pos.	neg.	neg.	neg.	neg.	pos.	neg.	neg.
34	27	pos.	pos.	neg.	neg.	neg.	pos.	neg.	neg.
35	32	pos.	neg.	neg.	9200	neg.	pos.	neg.	neg.
36	39	pos.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
37	37	pos.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
38	32	pos.	neg.	neg.	pos.	neg.	pos.	neg.	neg.
39	35	pos.	neg.	neg.	neg.	neg.	pos.	neg.	neg.
40	26	pos.	neg.	–	pos.	neg.	pos.	neg.	neg.
41	39	pos.	neg.	neg.	neg.	neg.	pos.	neg.	neg.
42	23	pos.	neg.	neg.	pos.	grenz.	pos.	neg.	neg.
43	35	pos.	neg.	neg.	neg.	neg.	pos.	neg.	neg.
44	36	pos.	neg.	neg.	pos.	neg.	pos.	neg.	neg.
45	33	pos.	neg.	neg.	neg.	neg.	pos.	neg.	neg.
46	30	pos.	neg.	neg.	pos.	grenz.	pos.	neg.	neg.

Tab. 8: Ergebnisse bei Müttern und Kindern (grenz. = grenzwertig)

Bei 41 (89,1 %) Kindern fanden sich Antikörper vom Typ IgG gegen HHV-8. Antikörper vom Typ IgM gegen HHV-8 zeigten 10 (21,7 %) Mütter und keines der Kinder. HHV-8-DNA ließ sich bei 2 (4,3 %) Müttern und 1 (2,2 %) Kind nachweisen [3,141].

Das Durchschnittsalter der untersuchten Mütter lag bei 30,9 Jahren.

	Mütter (46)	Kinder (46)
HHV-8-IgG	46 (100 %)	41 (89,1 %)
HHV-8-IgM	10 (21,7 %)	0 (0,0 %)
HHV-8-DNA	2 (4,3 %)	1 (2,2 %)

Tab. 9: Prävalenzen von HHV 8-IgG, -IgM und -DNA bei Müttern und Kindern

Antikörper vom Typ IgG gegen CMV zeigten 29 (63,0 %) Mütter, von denen 2 (4,3 %) auch Antikörper vom Typ IgM gegen CMV aufwiesen. Bei diesen beiden Müttern konnten zudem auch Antikörper vom Typ IgM gegen HHV-8 nachgewiesen werden [3,141].

	Mütter (46)
CMV-IgG	29 (63,0 %)
CMV-IgM	2 (4,3 %)
HHV-8- und CMV-IgG	29 (63,0 %)
HHV-8- und CMV-IgM	2 (4,3 %)

Tab. 10: Prävalenzen der IgG- und IgM-Antikörper bei den Müttern

3.6.2 Seroprävalenz des HHV-8 in der Kontrollgruppe

Als Kontrollgruppe wurde ein Kollektiv von HIV-Patienten gewählt. Diese umfaßte insgesamt 60 Patienten, davon 14 Frauen und 46 Männer. Gesucht wurde nach Antikörpern vom Typ IgG und IgM gegen HHV-8 und nach HHV-8-DNA. Tab. 11 zeigt die Ergebnisse der Untersuchungen, die Stadieneinteilung der HIV-Erkrankung sowie das Vorhandensein von KS. Die Stadieneinteilung erfolgte wie in Tab. 7 beschrieben.

	Geschlecht	Alter 1999	HHV8- IgG	HHV8- IgM	HHV8- DNA	KS	Stadium
1	w.	33	pos.		neg.	—	B3
2	m.	44	neg.	neg.	neg.	—	A3
3	m.	34	neg.	neg.	neg.	—	A3
4	m.	40	neg.	neg.	neg.	—	B3
5	m.	47	pos.	neg.	neg.	—	B3
6	w.	23	pos.	neg.	pos.	—	C3
7	m.	59	pos.	neg.	neg.	—	C2
8	m.	43	neg.	neg.	neg.	—	C3
9	m.	30	pos.	pos.	neg.	—	C3
10	m.	52	pos.	neg.	neg.	—	C3
11	m.	38	neg.	neg.	neg.	—	B2
12	m.	40	pos.!	pos.!	neg.	—	B3
13	w.	39	neg.	neg.	neg.	—	C3
14	m.	37	pos.	neg.	neg.	—	A2
15	m.	43	pos.!	neg.	neg.	—	B2
16	m.	35	pos.	neg.	neg.	—	A2
17	w.	26	pos.!	neg.	neg.	+	C3
18	w.	32	neg.	neg.	neg.	—	B3
19	m.	32	neg.	neg.	neg.	—	C3
20	m.	45	pos.	neg.	neg.	—	B3
21	m.	53	neg.	neg.	neg.	—	A3
22	m.	28	neg.	neg.	neg.	—	B3
23	m.	23	neg.	neg.	neg.	—	C3
24	m.	62	pos.	neg.	neg.	—	B2
25	m.	34	pos.!	pos.	neg.	+	C3
26	w.	22	neg.	neg.	neg.	—	A1
27	m.	59	pos.	neg.	neg.	—	C3
28	m.	40	neg.	neg.	neg.	—	C3
29	w.	35	neg.	neg.	neg.	—	A2
30	m.	28	neg.	neg.	neg.	—	C1
31	m.	59	neg.	neg.	neg.	—	C3
32	m.	39	pos.	neg.	neg.	—	C3
33	m.	55	pos.	neg.	neg.	—	C3
34	m.	32	pos.	neg.	neg.	—	A2
35	m.	28	neg.	neg.	neg.	—	B3
36	m.	45	pos.	pos.	neg.	—	C3
37	w.	34	neg.	neg.	neg.	—	A2
38	m.	57	pos.!	pos.	neg.	+	C3
39	m.	60	neg.	neg.	neg.	—	A3
40	m.	44	pos.	neg.	neg.	—	A3
41	m.	63	neg.	neg.	neg.	—	A3
42	w.	60	neg.	neg.	neg.	—	A1
43	m.	35	pos.	neg.	pos.	—	A3
44	m.	37	neg.	neg.	neg.	—	A3
45	m.	46	neg.	neg.	neg.	—	A2
46	w.	27	pos.!	neg.	neg.	—	A2
47	m.	26	neg.	neg.	neg.	—	A2
48	m.	39	pos.	neg.	pos.	—	A1
49	w.	36	pos.	neg.	neg.	—	C3
50	w.	56	pos.	neg.	neg.	—	C3
51	m.	58	pos.!	neg.	neg.	—	C2
52	m.	47	pos.	neg.	neg.	—	A3

	Geschlecht	Alter 1999	HHV8-IgG	HHV8-IgM	HHV8-DNA	KS	Stadium
53	m.	39	pos.	neg.	neg.	—	B3
54	w.	29	neg.	neg.	neg.	—	B3
55	m.	52	pos.	pos.	pos.	—	A3
56	m.	42	pos.	neg.	neg.	—	C3
57	m.	39	pos.!	neg.	neg.	+	C2
58	m.	55	pos.	neg.	neg.	—	C3
59	m.	59	pos.	neg.	neg.	—	C3
60	w.	38	pos.	pos.	neg.	—	A3

Tab. 11: Ergebnisse in der Kontrollgruppe bezüglich der Nachweise von IgG- und IgM-Antikörpern gegen HHV-8 und von HHV-8-DNA, des Vorhandenseins des Kaposi Sarkoms und der Einordnung in die CDC-Stadien der HIV-Erkrankung (siehe Tab. 7)

Das Durchschnittsalter der gesamten Gruppe lag bei 42 Jahren, das der Frauen bei 35 Jahren und das der Männer bei 43 Jahren. Antikörper vom Typ IgG gegen HHV-8 zeigten insgesamt 35 (58,3 %) Patienten, wobei davon 7 (50,0 %) Frauen und 28 (60,9 %) Männer waren. Insgesamt 7 (11,7 %) der Patienten wiesen Antikörper vom Typ IgM gegen HHV-8 auf, davon 1 (7,1 %) Frau und 6 (13,0 %) Männer. HHV-8-DNA ließ sich bei insgesamt 4 (6,7 %) Patienten nachweisen, bei 1 (7,1 %) Frau und 3 (6,5 %) Männern. Auch das Kaposi Sarkom fand sich bei 4 (6,7 %) Patienten (1 (7,1 %) Frau und 3 (6,5 %) Männer), wobei es aber keine Übereinstimmung mit den Patienten, die HHV-8-DNA aufwiesen, gab.

	Gesamt (60)	Frauen (14)	Männer (46)
Durchschnittsalter [Jahre]	42	35	43
HHV-8-IgG	35 (58,3 %)	7 (50,0 %)	28 (60,9 %)
HHV-8-IgM	7 (11,7 %)	1 (7,1 %)	6 (13,0 %)
HHV-8-DNA	4 (6,7 %)	1 (7,1 %)	3 (6,5 %)
Kaposi Sarkom	4 (6,7 %)	1 (7,1 %)	3 (6,5 %)
Stadium A1	3 (5,0 %)	2 (14,3 %)	1 (2,2 %)
Stadium A2	8 (13,3 %)	3 (21,4 %)	5 (10,9 %)
Stadium A3	11 (18,3 %)	1 (7,1 %)	10 (21,7 %)
Stadium B1	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
Stadium B2	3 (5,0 %)	0 (0,0 %)	3 (6,5 %)
Stadium B3	10 (16,7 %)	3 (21,4 %)	7 (15,2 %)
Stadium C1	1 (1,7 %)	0 (0,0 %)	1 (2,2 %)
Stadium C2	3 (5,0 %)	0 (0,0 %)	3 (6,5 %)
Stadium C3	21 (35 %)	5 (35,7 %)	16 (34,8 %)

Tab. 12: Prävalenzen in der Kontrollgruppe

4 Diskussion

4.1 Vertikale versus horizontale Übertragung von HHV-8

Im Rahmen der Untersuchungen von Nabelschnurblut von 46 Neugeborenen HHV-8-seropositiver Mütter konnte bei einem Neugeborenen (1/46, 2,2 %) HHV-8-DNA mittels nested-PCR aus kindlichem Nabelschnurblut nachgewiesen werden. Dieser Nachweis kann als direkter Beweis für die Möglichkeit der vertikalen Übertragung des HHV-8 angesehen werden. Die Sequenzanalyse der isolierten HHV-8-DNA zeigte zwar eine Übereinstimmung mit der aus den BCBL-1-Zellen isolierten DNA, trotzdem ist eine Kontamination der Probe als unwahrscheinlich anzusehen, da zum einen die DNA-Extraktion und die PCR-Untersuchungen in separaten Laboratorien durchgeführt wurden, und zum anderen HHV-8-DNA nur in einem geringen Prozentsatz der Proben nachgewiesen werden konnte. Auch eine Kontamination des kindlichen Blutes durch mütterliches Blut ist nicht zu vermuten, da im mütterlichen Blut zum einen keine HHV-8-DNA, sondern lediglich Antikörper gegen HHV-8 nachweisbar waren. Zum anderen konnte durch das negative Ergebnis der PCR-Amplifikation des nicht-vererbbaaren HLA-DR β Exon 2 eine Kontamination durch mütterliches Blut ausgeschlossen werden [73]. Des weiteren wurde, um ein falsch-positives Ergebnis auszuschließen, mittels eines weiteren Primerpaares das Ergebnis verifiziert.

Das negative Ergebnis der Untersuchung des mütterlichen Blutes auf HHV-8-DNA ist zu erklären durch die Unterschiedlichkeit der Nachweise: Während der IFA die lebenslang produzierten Antikörper nachweist, wird mit der PCR zirkulierendes Virusgenom aufgespürt. Obwohl das HHV-8 im Infizierten persistiert, muß im verwandten Untersuchungsmaterial (Vollblut) nicht zwingend bei jedem Seropositiven HHV-8-DNA nachweisbar sein. Ein falsch negatives Ergebnis der PCR-Untersuchung des mütterlichen Blutes aufgrund von PCR-Inhibitoren konnte durch das positive Ergebnis der β -actin-PCR ausgeschlossen werden.

Derzeit liegen nicht viele Studien vor, die explizit der Frage nach der Möglichkeit der vertikalen Übertragung des HHV-8 (insbesondere in Nicht-Endemiegebieten) nachgehen.

Die Möglichkeit der vertikalen Übertragung des HHV-8 konnten auch Mantina et al. aufzeigen, die ein Kollektiv von 89 HHV-8-seropositiven Müttern aus Sambia und deren Neugeborenen untersuchten. Bei 13 der 89 untersuchten Mütter (14,6 %) war HHV-8-DNA in den mononukleären Zellen des peripheren Blutes nachweisbar, sowie bei zwei von 89 Neugeborenen (2,5 %) (deren Mütter zeigten einen negativen HIV-1-Serostatus). Zum Ausschluß falsch-

positiver Ergebnisse wurden die Blutproben der Neugeborenen zudem mittels eines weiteren Primerpaares untersucht [85].

Brayfield et al. kamen durch ihre Untersuchung der mononukleären Zellen des peripheren Blutes von 12 Neugeborenen aus Sambia zu einem ähnlichen Ergebnis. Bei zwei Neugeborenen (16 %) konnte HHV-8-DNA nachgewiesen werden (Mütter mit positivem HHV-8- und negativem HIV-1-Serostatus). Der positive DNA-Nachweis wurde mittels weiterer PCR-Untersuchungen bestätigt [21].

Für die Möglichkeit der vertikalen Übertragung sprechen auch zwei Fallberichte über das Auftreten von KS bei einem sechs Tage alten Säugling und einem sechs Monate alten Kind [54,83].

Ebenso ergeben sich aus einer Analyse von 100 KS-Fällen im Kindesalter in Uganda [169] indirekte Hinweise auf die Möglichkeit einer vertikalen Übertragung des HHV-8. Ziegler und Katongole-Mbidde konnten zeigen, daß das mittlere Alter, in dem erstmalig KS auftrat, bei HIV-positiven Kindern bei 33 Monaten (Intervall 2-98) und bei HIV-negativen Kindern bei 34 Monaten (Intervall 11-108) lag. Diese Daten sprechen für einen sehr frühen Zeitpunkt der Infektion mit HHV-8, entweder intrauterin, unter der Geburt oder in der frühen Kindheit.

Ein gegenteiliges Ergebnis erlangten Sarmati et al. durch das Screening von 50 Proben Nabelschnurblutes, in denen mittels PCR keine HHV-8-DNA Sequenzen nachgewiesen werden konnten, obwohl die Sensitivität der verwendeten PCR-Untersuchung mit ein bis zwei Viruskopien angegeben wurde [135]. Jedoch lag bei dieser Studie die HHV-8-Seroprävalenzrate der Mütter lediglich bei 6,4 % (3/47) im Gegensatz zu einer Seroprävalenzrate von 14,9 % (46/308) in der oben beschriebenen eigenen Studie. Im Anschluß an das serologische Screening im Rahmen der eigenen Studie wurde zudem nur das Nabelschnurblut der Kinder untersucht, deren Mütter HHV-8-Antikörper aufwiesen. Dadurch ergab sich im Kollektiv von 46 Mutter-Kind-Paaren eine HHV-8-Seroprävalenzrate der Mütter von 100% verglichen mit einer Seroprävalenzrate von 6,4 % in einem Kollektiv ähnlicher Größe (47 Mutter-Kind-Paare). Somit kann der fehlende Nachweis von HHV-8-DNA Sequenzen im Nabelschnurblut im Rahmen der Studie von Sarmati et al. [135] nicht als statistisch signifikanter Beweis gewertet werden, der eine vertikale Übertragung des HHV-8 ausschließt, da zum einen das untersuchte Kollektiv mit 47 Mutter-Kind-Paaren im Vergleich zu klein ist, und zum anderen die Seroprävalenzrate zu niedrig ist.

Calabro et al. sprechen sich basierend auf ihrer Untersuchung von 32 HIV-positiven Müttern und ihrer Kinder gegen die Möglichkeit der vertikalen Übertragung des HHV-8 aus. Bei 34,3 % der

Mütter (11/32) und bei allen Kindern dieser Mütter konnten HHV-8-Antikörper nachgewiesen werden. Im Alter von zwölf Monaten zeigten sich noch fünf dieser Kinder seropositiv, jedoch konnte mittels einer nested-PCR-Untersuchung keine HHV-8-DNA aus den mononukleären Zellen des peripheren Blutes nachgewiesen werden. Nach 24 Monaten konnten bei keinem der Kinder HHV-8-Antikörper detektiert werden [23]. Bei dieser Studie lag die Seroprävalenzrate der Mütter mit 34,3 % (11/32) zwar über der Seroprävalenzrate der zuvor beschriebenen Studie und über der Seroprävalenzrate von 14,9 % (46/308) der eigenen Studie. Jedoch ist in der eigenen Studie das Kollektiv der Mütter mit 308 gegenüber 32 in der Studie von Calabro et al. [23] um ein Vielfaches größer, so daß ebenso bei dieser Studie die statistische Signifikanz aufgrund des zu kleinen Kollektivs in Frage gestellt werden kann. Zudem wurden bezogen auf die Empfindlichkeit der durchgeführten nested-PCR keine Angaben gemacht, die jedoch von Bedeutung sind, da die Kopienanzahl der Viren in den mononukleären Zellen des peripheren Blutes sogar bei Patienten mit AIDS-KS gering ist [153].

Eine Vielzahl von anderen, vor allem serologischen Studien, stellt die horizontale Übertragung des HHV-8 gegenüber der vertikalen Übertragung in den Vordergrund.

Anhand seroepidemiologischer Studien von 1337 Einwohnern afrikanischer Abstammung in Französisch Guayana fanden Plancoulaine et al. eine hohe Korrelation zwischen kindlicher und mütterlicher Seropositivität für HHV-8 (insbesondere bei Kindern mit einem Alter unter zehn Jahren) bzw. der Seropositivität unter Geschwistern. Zudem zeigte sich eine deutlich altersabhängige Zunahme der Seropositivität. Diese beiden Ergebnisse zusammen mit der geringen Seroprävalenz bei Kindern unter fünf Jahren ließen Plancoulaine et al. zu dem Schluß kommen, daß HHV-8 in Endemiegebieten vor allem horizontal von der Mutter auf das Kind oder unter Geschwistern übertragen wird [116].

Lyall et al. untersuchten Serumproben von 92 Mutter-Kind-Paaren sowie 100 Kindern auf das Vorkommen von Antikörpern gegen HHV-8. Bei 17 der 92 Mütter (18,5 %) waren HHV-8-Antikörper nachweisbar. Von den Kindern dieser 17 Mütter, die ausnahmslos afrikanischen Ursprungs waren, wiesen 11 (64,7 %) ebenfalls Antikörper auf, jedoch nahm der Antikörpertiter kontinuierlich bis zu einem Alter der Kinder von sieben Monaten ab. Sechs Kinder zeigten zudem eine Serokonversion, was für einen diaplazentaren Übergang der mütterlichen Antikörper auf das Kind und gegen eine vertikale Übertragung von HHV-8 spricht. Diese Beobachtung zusammen mit einer Seroprävalenzrate von 6 % unter den untersuchten 100 Kindern (mittleres Alter 4 Jahre), ließ die Autoren eine horizontale Übertragung des HHV-8 vermuten [81].

Eine Studie unter 215 Kindern, Heranwachsenden und jungen Erwachsenen aus Uganda konnte bei 52 % (110/215) Antikörper gegen orf65 und /oder LANA-Antikörper nachweisen, sowie eine deutliche Zunahme der Prävalenz mit dem Alter (37 % bei Kindern zwischen 0-5 Jahren und 58 % bei Kindern zwischen 5-9 Jahren verglichen mit 49 % bei jungen Erwachsenen im Alter von 20-24 Jahren), zwei Tatsachen, die für eine am ehesten nicht sexuelle, horizontale Übertragung vor der Pubertät in Endemiegebieten sprechen [94].

Seroepidemiologische Studien von 567 hospitalisierten Kindern aus Italien ergaben eine Seroprävalenzrate von 4,4 % und einen Anstieg derselben mit zunehmendem Alter, dieselben zwei Beobachtungen, die auch Mayama et al. für das Vorkommen einer horizontalen Übertragung des HHV-8 in Endemiegebieten, bzw. in Gebieten mit hohen HHV-8-Seroprävalenzraten votieren lassen [163].

Eine Studie von 32 Mutter-Kind-Paaren aus Kamerun mit einer HHV-8-Seroprävalenzrate von 47 % der Mütter (15/32) konnte bei allen zwölf untersuchten Neugeborenen HHV-8-positiver Mütter IgG-Antikörper gegen HHV-8 innerhalb der ersten drei Monate nach der Geburt nachweisen. Dieses Ergebnis wurde auf die passive, diaplazentare Übertragung mütterlicher IgG-Antikörper zurückgeführt. Für diese Schlussfolgerung spricht, daß bei den Kindern im Alter von 12 Monaten nur noch bei zweien Antikörper gegen HHV-8 nachweisbar waren. Hingegen sprechen die beiden Fälle, in denen die Antikörper auch weiterhin (in einem Fall bei Geburt, sowie im Alter von vier, sechs und elf Monaten und im anderen Fall bei Geburt, sowie nach fünf Monaten) zu finden waren, für die Möglichkeit der vertikalen Übertragung des HHV-8 [50].

4.2 Seroprävalenzen des HHV-8 in den verschiedenen Populationen im Vergleich

In der Literatur finden sich viele verschiedene Studien, die die Seroprävalenzen des HHV-8 in unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen und Ländern untersuchten. Hierbei ist zu beachten, daß je nach verwendeter Untersuchungsmethode (IFA, ELISA, EIA, Immunoblot oder PCR) zum Teil sehr deutliche Unterschiede in den Seroprävalenzraten beschreiben werden. Spira et al. untersuchten 88 Proben verschiedener Patientenkollektive (HIV-positive Patienten mit KS, HIV-positive Patienten, die im Verlauf KS entwickelten, HIV-positive ohne KS und gesunde Blutspender) mittels verschiedener serologischer Tests und mittels PCR. Dabei zeigte sich, daß

keine der verwendeten Untersuchungsmethoden zu hundert Prozent sensitiv und spezifisch war. Allein der IFA gegen lytische Antigene zeichnete sich als hoch sensitiv, jedoch nicht als hundertprozentig spezifisch aus. Die PCR stellte sich als insensitive Methode zum Nachweis einer HHV-8-Infektion heraus [150]. Auch Rabkin et al. sprachen dem IFA gegen lytische Antigene auf der Grundlage vergleichender Untersuchungen von 143 Proben verschiedener Patientenkollektive (Patienten mit klassischem KS, Patienten mit AIDS-KS, HIV-positive Patienten und gesunde Blutspender) eine hohe Sensitivität zu [120].

Im folgenden sollen die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen, die mittels IFA gegen lytische Antigene ermittelt wurden, in diesem Kontext beleuchtet werden.

4.2.1 Seroprävalenz des HHV-8 bei Neugeborenen und Kindern

Die HHV-8-Seroprävalenzraten Neugeborener sind bis dato nur in wenigen Studien untersucht, häufiger finden sich Angaben zu den HHV-8-Seroprävalenzraten bei Kindern. Eine Zusammenstellung der Ergebnisse verschiedener Studien ist Tab. 13 zu entnehmen. Vor allem im Hinblick auf die Einordnung der eigenen Studie muß zwischen den HHV-8-Seroprävalenzraten der Neugeborenen HHV-8-positiver Mütter und den HHV-8-Seroprävalenzen Neugeborener im allgemeinen unterschieden werden. Die HHV-8-Seroprävalenzraten von Neugeborenen HHV-8-positiver Mütter werden mit 91,6 % (83,1 – 100 %) angegeben [23,85] (vgl. Tab. 13). Im Rahmen der eigenen Studie fand sich eine mit diesem Wert gut korrelierende HHV-8-Seroprävalenzrate von 89,1 %. In der Gruppe der (unselektionierten) Neugeborenen hingegen liegen die HHV-8-Seroprävalenzraten mit 3,2 % deutlich niedriger. Jedoch in Kamerun finden sich mit 46 % relativ hohe HHV-8-Seroprävalenzraten, wobei hier auch die HHV-8-Seroprävalenzraten der Mütter mit 47 % im Vergleich relativ hoch sind [50]. Eine mittlere HHV-8-Seroprävalenzrate von 29,6 % (0 – 46 %) zeigt sich bei Kindern HHV-8-positiver bzw. KS-positiver Mütter. Bei den (unselektionierten) Kindern ergibt sich eine mittlere HHV-8-Seroprävalenzrate von 18,1 % (0 – 57,8 %), wobei in zwei Studien [6,50] ein deutlicher Anstieg der Seroprävalenz mit dem Alter zu erkennen ist.

Patientengruppe / Charakteristika	Land	Anzahl der Seren	Seroprävalenz [%]	Test-art	Ref.
Neugeborene HHV-8+ Mütter	Deutschland	46	89,1	IFA	Eig.
Neugeborene HHV-8+ Mütter	Sambia	89	83,1	IFA	[85]
Neugeborene HHV-8+ Mütter	Italien	11	100	IFA	[23]
Neugeborene	Sardinien	564	5,9	IFA	[142]
Neugeborene (Alter bis 7 Monate)	Kamerun	37	46	IFA	[50]
Kinder mit KS+ Müttern	Sambia	7	42,9	IFA	[56]
Kinder HHV-8+ Mütter	Haiti / USA	9	0	IFA	[51]
Kinder HHV-8+ Mütter	Südafrika	19	42	IFA	[20]
Kinder (Alter 12-36 Monate)	Sardinien	564	3,2	IFA	[142]
Kinder (Alter 7-12 Monate)	Kamerun	32	12,5	IFA	[50]
Kinder (Alter 3-4 Jahre)	Kamerun	36	13,9	IFA	[50]
Kinder (Alter 5-8 Jahre)	Kamerun	34	23,5	IFA	[50]
Kinder (Alter 9-11 Jahre)	Kamerun	36	25	IFA	[50]
Kinder (Alter < 1 Jahr)	Ägypten	42	16,6	IFA	[6]
Kinder (Alter 1-3 Jahre)	Ägypten	40	37,5	IFA	[6]
Kinder (Alter 4-6 Jahre)	Ägypten	40	45	IFA	[6]
Kinder (Alter 7-9 Jahre)	Ägypten	38	57,8	IFA	[6]
Kinder	USA	189	0	IFA	[51]
Kinder	Italien	567	4,4	IFA	[163]
Kinder	Fr. Guayana	656	7,3	IFA	[116]
Kinder	Ägypten	246	44,7	IFA	[6]
Kinder	USA	177	3,4	IFA	[77]
Kinder	Japan	56	64	PCR	[69]
Kinder	Ägypten	86	41,9	IFA	[7]
Kinder	Sardinien	129	13,2	IFA	[143]
Kinder	Kroatien	73	13,7	IFA	[143]
Kinder	USA / Deut.	787	3 – 4	IFA	[92]
Kinder und junge Erwachsene	Uganda	215	33	IFA	[94]
Kinder mit Fieber und Ausschlag		24	0	IFA	[145]
Kinder mit erstmaligem Fieber	Sambia	53	8	PCR	[64]
Kinder mit AIDS	USA	51	0	IFA	[18]

Tab. 13: Vergleich der HHV-8-Seroprävalenzen bei Neugeborenen und Kindern unterschiedlicher Herkunft zusammengestellt aus verschiedenen Studien / Referenzen (Ref. = Referenz, Eig. = eigene Studie, IFA = Immunfluoreszenztest, PCR = Polymerasekettenreaktion, Fr. Guayana = Französisch Guayana, Deut. = Deutschland)

4.2.2 Seroprävalenz des HHV-8 bei Frauen

In der Literatur finden sich viele unterschiedliche Angaben über die HHV-8-Seroprävalenzraten bei Frauen, eine Zusammenstellung bietet Tab. 14. Lässt man den HIV-Serostatus und die Herkunft außer Acht, ergibt sich eine mittlere HHV-8-Seroprävalenzrate bei KS-negativen Frauen von 18,9 % (1,2 – 51,1 %). Die mittlere HHV-8-Seroprävalenzrate von Frauen (ungeachtet des HIV-Serostatus) aus Deutschland, USA und Großbritannien liegt bei 10 % (1,2 – 18,5 %) und die von HIV-negativen Frauen aus Deutschland, USA und Großbritannien bei 8,0 % (1,2 – 18,5%), wobei die im Rahmen der eigenen Studie ermittelte HHV-8-Seroprävalenzrate von 14,9 % gut mit diesen Wert korreliert. Auffällig sind die deutlich höheren HHV-8-Seroprävalenzraten in den Ländern mit hoher Inzidenz von KS (mittlere HHV-8-Seroprävalenzrate von 45,4 % (37,3 – 51,1 %) in Sambia und eine HHV-8-Seroprävalenzrate von 34,4 % in Italien).

Patientengruppe / Charakteristika	Land	Anzahl der Seren	Seroprävalenz [%]	Test-art	Ref.
Schwangere	Deutschland	308	14,9	IFA	Eig.
HIV+ und KS+ Frauen	USA	8	87,5	IFA	[53]
HIV+ Frauen (in Afrika geboren)	GB	56	23,2	IFA	[165]
HIV+ Frauen (nt. in Afrika geboren)	GB	23	17,4	IFA	[165]
HIV+ und KS- Frauen	Deutschland	51	15,7	IFA	[119]
HIV+ und KS- Frauen	USA	1829	14,6	IFA	[53]
HIV+ Frauen	USA	302	4	IFA	[66]
HIV+ Frauen	USA	874	18,2	ELISA	[26]
HIV+ und KS- Schwangere	Sambia	103	51,1	IFA	[56]
HIV+ Schwangere	USA	118	1,7	IFA	[51]
HIV+ Schwangere	Haiti	28	3,6	IFA	[51]
HIV+ Schwangere	Sambia	957	45,8	IFA	[21]
HIV+ Mütter	Italien	32	34,3	IFA	[23]
HIV- und KS- Frauen	USA	482	6,4	IFA	[53]
HIV- Frauen (in Afrika geboren)	GB	35	25,7	IFA	[165]
HIV- Frauen (nt. In Afrika geboren)	GB	55	9,1	IFA	[165]
HIV- Frauen	USA	84	1,2	IFA	[66]
HIV- Frauen (Risikogruppe für HIV)	USA	421	11,6	ELISA	[26]
HIV- Schwangere	USA	80	1,3	IFA	[51]
HIV- Schwangere	Haiti	63	12,7	IFA	[51]
HIV- Schwangere	Sambia	2139	37,3	IFA	[21]
HIV- und KS- Schwangere	Sambia	275	47,3	IFA	[56]
Mütter	Südafrika	107	16	IFA	[20]
Mütter	GB	92	18,5	IFA	[81]

Tab. 14: Vergleich der HHV-8-Seroprävalenzen bei Frauen unterschiedlicher Herkunft zusammengestellt aus verschiedenen Studien / Referenzen (Ref. = Referenz, Eig. = eigene Studie, nt. = nicht, IFA = Immunfluoreszenztest, ELISA = enzyme linked immuno sorbent assay, GB = Großbritannien)

4.2.3 Seroprävalenz des HHV-8 bei HIV-positiven Personen

Zu den HHV-8-Seroprävalenzraten HIV-positiver Personen finden sich in der Literatur eine Vielzahl von Angaben, die in Tab. 15 exemplarisch zusammengestellt sind. Bei HIV-positiven und KS-negativen Frauen liegt die mittlere HHV-8-Seroprävalenzrate bei 20,9 % (1,7 – 51,1 %), wobei der im Rahmen der eigenen Studie ermittelte Wert mit 46,2 % im oberen Bereich des Intervalls anzusiedeln ist. Da bezüglich der Risikofaktoren für eine HHV-8-Infektion (siehe 1.2.4) der untersuchten Frauen keine Angaben vorliegen, ist die im Vergleich hohe HHV-8-Seroprävalenzrate nur schwer zu interpretieren und könnte eventuell auf eine erhöhte Promiskuität und sexuelles Risikoverhalten bei den untersuchten Frauen hindeuten. Ein Vergleich der HHV-8-Seroprävalenzrate der Männer ohne KS der eigenen Studie (58,1 %) mit den Angaben aus der Literatur fällt ebenfalls schwer, da sich die meisten HHV-8-Seroprävalenzraten in der Literatur auf homo- und bisexuelle Männer beziehen, die eine höhere HHV-8-Seroprävalenzrate aufweisen als heterosexuelle Männer (siehe auch 1.2.4). Jedoch liegen von den in der eigenen Studie untersuchten Männern keine Angaben zu sexuellen Präferenzen vor. Läßt man die Herkunft und die sexuelle Ausrichtung außer Acht liegt die mittlere HHV-8-Seroprävalenzrate KS-negativer Männer bei 35,6 % (18 – 57,7 %).

Patientengruppe / Charakteristika	Land	Anzahl der Seren	Seroprävalenz [%]	Test-art	Ref.
HIV+ und KS+ Frauen	Deutschland	1	100	IFA	Eig.
HIV+ und KS- Frauen	Deutschland	13	46,2	IFA	Eig.
HIV+ und KS+ Männer	Deutschland	3	100	IFA	Eig.
HIV+ und KS- Männer	Deutschland	43	58,1	IFA	Eig.
HIV+ Blutspender	USA	138	30	IFA	[67]
HIV+ und Hämophilie	USA	300	3	IFA	[67]
HIV+ und Hämophilie	GB	26	0	IFA	[145]
HIV+ und IVD	GB	38	0	IFA	[145]
HIV+ und KS+	USA / GB	103	81,5	IFA	[145]
HIV+ und KS+	Schweiz	26	92,3	ELISA	[122]
KS+ (75 % HIV+)	Südafrika	51	83	IFA	[146]
HIV+	Uganda	34	53	IFA	[145]
HIV+ und KS-	USA	54	13	IFA	[98]
HIV+ und KS-	Uganda	35	51	IFA	[47]
Homosexuelle AIDS-Patienten, KS+	USA	40	88	IFA	[47]
Homosexuelle AIDS-Patienten, KS-	USA	40	30	IFA	[47]
HIV+ und KS+ Männer	USA	48	65	IFA	[98]
HIV+ und KS+ homosexuelle Männer	Brasilien	14	64	IFA	[167]
HIV+ und KS- homosexuelle Männer	Brasilien	80	18	IFA	[167]
HIV+ und KS- homosexuelle Männer		33	30	IFA	[145]
HIV+ und KS- Homosexuelle	Schweiz	63	30,2	ELISA	[122]
HIV+ homo- und bisexuelle Männer	USA	396	47,7	IFA	[90]

Patientengruppe / Charakteristika	Land	Anzahl der Seren	Seroprävalenz [%]	Test-art	Ref.
HIV+ homosexuelle Männer	USA	26	57,7	IFA	[16]
HIV+ und KS+ Frauen	USA	8	87,5	IFA	[53]
HIV+ Frauen (in Afrika geboren)	GB	56	23,2	IFA	[165]
HIV+ Frauen (nt. in Afrika geboren)	GB	23	17,4	IFA	[165]
HIV+ und KS- Frauen	Deutschland	51	15,7	IFA	[119]
HIV+ und KS- Frauen	USA	1829	14,6	IFA	[53]
HIV+ Frauen	USA	302	4	IFA	[66]
HIV+ Frauen	USA	874	18,2	ELISA	[26]
HIV+ und KS- Schwangere	Sambia	103	51,1	IFA	[56]
HIV+ Schwangere	USA	118	1,7	IFA	[51]
HIV+ Schwangere	Haiti	28	3,6	IFA	[51]
HIV+ Schwangere	Sambia	957	45,8	IFA	[21]
HIV+ Mütter	Italien	32	34,3	IFA	[23]

Tab. 15: Vergleich der HHV-8-Seroprävalenzen bei HIV-positiven Personen unterschiedlicher Herkunft zusammengestellt aus verschiedenen Studien / Referenzen (Ref. = Referenz, Eig. = eigene Studie, nt. = nicht, IFA = Immunfluoreszenztest, ELISA = enzyme linked immuno sorbent assay, GB = Großbritannien)

4.2.4 Seroprävalenzen des HHV-8 in anderen Bevölkerungsgruppen

Die Seroprävalenzen in verschiedenen Riskogruppen und Bevölkerungsgruppen zeigt Tab. 16 im Überblick. Auffallend ist die niedrige Seroprävalenzrate unter Hämophilie-Patienten (vgl. 1.2.4).

Patientengruppe / Charakteristika	Land	Anzahl der Seren	Seroprävalenz [%]	Test-art	Ref.
HIV+ und Hämophilie	GB	26	0	IFA	[145]
HIV+ und Hämophilie	USA	300	3	IFA	[67]
HIV+ und IVD	GB	38	0	IFA	[145]
Drogenabhängige Männer	Niederlande	676	3,4	EIA	[127]
Drogenabhängige Frauen	Niederlande	503	1,4	EIA	[127]
Patienten einer STD-Klinik	GB	1490	8,8	IFA	[148]
Patientinnen einer STD-Klinik	GB	1228	5,5	IFA	[148]
Patienten einer STD-Klinik (hetero)	USA	57	4	IFA	[67]
Patientinnen einer STD-Klinik	USA	59	9	IFA	[67]
Klassisches KS	Griechenland	18	94,4	IFA	[145]

Tab. 16: Vergleich der HHV-8-Seroprävalenzen bei unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen zusammengestellt aus verschiedenen Studien / Referenzen (Ref. = Referenz, IFA = Immunfluoreszenztest, EIA = enzyme immunoassay, GB = Großbritannien)

Die Seroprävalenzraten des HHV-8 in der Normalbevölkerung zeigen deutliche geographische Unterschiede (siehe auch 1.2.4) und spiegeln das Auftreten von KS wieder (klassisches KS in Italien und endemisches afrikanisches KS).

Patientengruppe / Charakteristika	Land	Anzahl der Seren	Seroprävalenz [%]	Test-art	Ref.
Blutspender	Deutschland	101	3	IFA	[119]
Blutspender	Schweiz	178	5,1	ELISA	[122]
Blutspender	USA	150	2,7	IFA	[145]
Blutspender	GB	117	0	IFA	[145]
Blutspender	USA	122	0	IFA	[47]
Blutspender	Italien	107	4	IFA	[47]
Blutspender	Norditalien	404	6,9	IFA	[162]
Blutspender	Zentralitalien	63	9,5	IFA	[162]
Blutspender	Süditalien	280	24,6	IFA	[162]
HIV- Blutspender	USA	141	1	IFA	[67]
Männliche Blutspender	Jamaika	119	5	IFA	[84]
Weibliche Blutspender	Jamaika	122	2,4	IFA	[84]
Männer	Fr. Guayana	874	11,7	IFA	[115]
Frauen	Fr. Guayana	945	11,8	IFA	[115]
Männer	Fr. Guayana	238	21	IFA	[116]
Frauen	Fr. Guayana	294	18,7	IFA	[116]

Tab. 17: Vergleich der HHV-8-Seroprävalenzen in der Normalbevölkerung unterschiedlicher Länder zusammengestellt aus verschiedenen Studien / Referenzen (Ref. = Referenz, IFA = Immunfluoreszenztest, ELISA = enzyme linked immuno sorbent assay, Fr. Guayana = Französisch Guayana, GB = Großbritannien)

4.3 HHV-8 und CMV in der Schwangerschaft

In der Literatur werden die CMV-IgG-Seroprävalenzraten Schwangerer mit 51,5 % in Frankreich [52], 62,5 % in Schweden [35], 62 % in den USA [89], 85,4 % in Indien [144], 87,0 % in Singapur [166] und 97 % in Jamaika [118] angegeben. Tookey et al. beschreiben in ihrer Studie mit einer Kohortengröße von 20000 Schwangeren aus London (Großbritannien) eine Gesamt-CMV-IgG-Seroprävalenzrate von 54,4 %, wobei sich jedoch große Unterschiede zwischen den verschiedenen ethnischen Gruppen finden: CMV-IgG-Seroprävalenzrate von 45,9 % bei Schwangeren weißer Hautfarbe, 88,2 % bei Asiatinnen und 77,2 % bei Schwangeren dunkler Hautfarbe [154]. Die CMV-IgM-Seroprävalenzraten liegen zwischen 0 % in Schweden [35] und 8,5 % in Indien [121] bzw. 20,8 % in einer anderen Studie ebenfalls aus Indien [65].

Die Rate der CMV-seropositiven Schwangeren, die während der Schwangerschaft eine Reaktivierung der CMV-Infektion durchlaufen, wird mit 10-20 % angegeben [37] (siehe auch 1.3.2). Als mögliche Ursachen dieser Reaktivierung werden in der Literatur die hormonelle Umstellung [70] und die vorübergehende Suppression der CMV-spezifischen zellulären Immunität während der Schwangerschaft [48] angeführt.

Im Kollektiv der HHV-8-positiven Schwangeren fand sich eine CMV-IgG-Seroprävalenzrate von 63 % (29/46), die im Vergleich mit den Seroprävalenzraten anderer europäischer Staaten im oberen Bereich liegt. Diese hohe Seroprävalenzrate von CMV in unserem Kollektiv könnte durch die Selektion des Kollektivs zu erklären sein, da lediglich Schwangere ausgewählt wurden, die IgG-Antikörper gegen HHV-8 aufwiesen. IgM-Antikörper gegen CMV ließen sich bei 4,3 % (2/46) der HHV-8-positiven Schwangeren nachweisen, die Zeichen einer Primärinfektion oder einer Reaktivierung sein können. Eine Reaktivierung der CMV-Infektion stellt jedoch die häufigere Variante dar [138] (siehe auch 1.3.2).

Bei der Mutter des Neugeborenen mit positivem Nachweis von HHV-8-DNA aus dem Nabelschnurblut fanden sich IgM-Antikörper gegen HHV-8. Dies spräche für das Auftreten einer Reaktivierung der HHV-8-Infektion oder einer Primärinfektion mit HHV-8 bei der Mutter. In Anlehnung an das Verhalten von CMV während der Schwangerschaft ist in beiden Fällen die Möglichkeit der intrauterinen Infektion des Fetus gegeben. In dem untersuchten Kollektiv der 46 HHV-8-IgG-positiven Mütter fand sich eine HHV-8-IgM-Seroprävalenzrate von 21,7 % (10/46), bezogen jedoch auf das initiale Kollektiv von 308 Müttern läge die HHV-8-IgM-Seroprävalenzrate bei etwa 3 %. Diese Seroprävalenzrate bewegt sich in der selben Größenordnung wie die CMV-IgM-Seroprävalenzraten Schwangerer. Somit liegt die Vermutung nahe, daß es ähnlich wie bei dem CMV auch bei dem HHV-8 zu Reaktivierungen während der Schwangerschaft kommen kann, die wiederum das Risiko einer intrauterinen Infektion des Fetus bergen.

4.4 HHV-8 und AIDS

Im untersuchten Kontrollkollektiv, bestehend aus HIV-positiven Patienten, fand sich weder ein Zusammenhang zwischen dem Nachweis von HHV-8-IgM-Antikörpern und dem Vorhandensein von KS noch zwischen dem Nachweis von HHV-8-DNA und dem Vorhandensein von KS. Es zeigte sich, daß die Patienten, bei denen KS diagnostiziert wurde, eine deutlich stärkere Reaktion

im IFA und damit höhere IgG-Antikörpertiter aufwiesen. Jedoch fanden sich auch Patienten ohne KS mit deutlich höheren IgG-Antikörpertitern, so daß die Höhe des IgG-Antikörpertiters keine direkten Rückschlüsse auf das Vorhandensein von KS erlaubt.

Auffällig ist jedoch die Zunahme der HHV-8-Seroprävalenzraten mit der Progredienz der HIV-Erkrankung (vgl. Tab. 18), insbesondere die Zunahme mit Abfall der T-Helfer-Zellen.

HIV-Stadium	HHV-8-IgG-positive gesamt (35)	HHV-8-IgG-positive Frauen (7)	HHV-8-IgG-positive Männer (28)
Stadium A1	1 (2,9 %)	0 (0 %)	1 (3,6 %)
Stadium A2	4 (11,4 %)	1 (14,9 %)	3 (10,7 %)
Stadium A3	5 (14,3 %)	1 (14,9 %)	4 (14,9 %)
Stadium B1	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Stadium B2	2 (5,7 %)	0 (0 %)	2 (7,1 %)
Stadium B3	5 (14,3 %)	1 (14,9 %)	4 (14,9 %)
Stadium C1	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Stadium C2	3 (8,6 %)	0 (0 %)	3 (10,7 %)
Stadium C3	15 (42,9 %)	4 (57,1 %)	11 (39,3 %)

Tab. 18: HIV-stadienabhängige Seroprävalenzraten

Einige Arbeitsgruppen sehen in dem Nachweis von HHV-8-DNA einen positiven prädiktiven Marker für das Auftreten eines Kaposi Sarkoms [105,161].

5 Zusammenfassung

Um die Frage nach der Möglichkeit einer vertikalen (intrauterinen) Übertragung des Humanen Herpesvirus Typ 8 (HHV-8) zu beantworten, wurden zunächst 308 Proben mütterlichen Blutes aus der Eurocord Bank der Universität Düsseldorf auf das Vorhandensein von IgG-Antikörper gegen HHV-8 untersucht. Da nur bei den für positiv befundeten Müttern das Risiko einer Übertragung gegeben ist, wurden diese mit ihren Neugeborenen in das endgültige Untersuchungskollektiv aufgenommen, welches 46 Mutter-Neugeborenen-Paare umfaßte. Im weiteren wurde das Blut der Mütter auf IgM-Antikörper gegen HHV-8, auf IgG- und IgM-Antikörper gegen CMV sowie auf HHV-8-DNA getestet und das der Neugeborenen auf IgG- und IgM-Antikörpern gegen HHV-8 sowie HHV-8-DNA. Lediglich der Nachweis von HHV-8-DNA im Blut der Neugeborenen wurde als Beweis für eine vertikale Übertragung des HHV-8 angesehen.

Die vertikale Übertragung des HHV-8 ist durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit als ein Übertragungsmodus des Virus anzusehen. Von den 46 untersuchten Neugeborenen HHV-8-seropositiver Mütter konnte bei einem Neugeborenen mittels nested-PCR HHV-8-DNA im Nabelschnurblut nachgewiesen werden, ein Beweis für das Auftreten der postulierten Infektion in utero. Die Tatsache, daß lediglich bei einem von 46 Neugeborenen HHV-8-DNA im Nabelschnurblut nachweisbar war, spricht jedoch für einen seltenen Übertragungsmodus.

Im Falle des Zytomegalievirus ist nicht nur die vertikale Übertragung beschrieben, sondern ein Zusammenhang zwischen dieser und der Reaktivierung des Virus bzw. einer Primärinfektion mit dem Virus, wobei die Reaktivierung die häufigere Variante darstellt. Die Mutter des Neugeborenen mit positivem Nachweis von HHV-8-DNA wies Antikörper vom Typ IgM gegen HHV-8 auf, welche für das Vorliegen einer Reaktivierung einer bestehenden HHV-8-Infektion oder für eine Primärinfektion mit HHV-8 sprechen. Wie beim Zytomegalievirus könnte somit auch beim HHV-8 im Zuge einer Reaktivierung (bzw. Primärinfektion) die Infektion des Kindes in utero erfolgen.

Der Vergleich der im Immunfluoreszenztest ermittelten Seroprävalenzraten der IgG-Antikörper gegen HHV-8 der beiden Kollektive Mütter (14,9 %) und Neugeborene (89,1 %) mit den Angaben aus der Literatur ergab eine gute Übereinstimmung, was als indirekte Validierung des verwendeten Immunfluoreszenztest zu sehen ist.

Das Kontrollkollektiv, bestehend aus HIV-positiven Patienten, zeigte eine Zunahme der HHV-8-Seroprävalenzrate proportional zur Progredienz der HIV-Erkrankung und antiproportional zur Zahl der CD4-positiven Lymphozyten.

6 Literatur

1. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. MMWR Recomm Rep 1992; 41:1-19.
2. Pschyrembel Klinisches Wörterbuch. Berlin: de Gruyter, 1994.
3. Adams, O., Krempe, C., Schwamborn, K., Kroidl, A., Kögler, G., and Wernet, P. Humanes Herpesvirus 8: Seroprävalenz bei Schwangeren sowie Nukleinsäurenachweis im mütterlichen- und Nabelschnurblut. 2001. Frühjahrstagung der Gesellschaft für Virologie in Dresden (14.03.-17.03.2001).
Ref Type: Pamphlet
4. Agbalika F, Mariette X, Marolleau JP, Femand JP, and Brouet JC. Detection of human herpesvirus-8 DNA in bone marrow biopsies from patients with multiple myeloma and Waldenstrom's macroglobulinemia. Blood 1998; 91:4393-4.
5. Ambroziak JA, Blackbourn DJ, Herndier BG et al. Herpes-Like Sequences in Hiv-Infected and Uninfected Kaposi-Sarcoma Patients. Science 1995; 268:582-3.
6. Andreoni M, El Sawaf G, Rezza G et al. High seroprevalence of antibodies to human herpesvirus-8 in Egyptian children: evidence of nonsexual transmission. J Natl Cancer Inst 1999; 91:465-9.
7. Andreoni M, Sarmati L, Nicastrì E et al. Primary human herpesvirus 8 infection in immunocompetent children. JAMA 2002; 287:1295-300.
8. Angeloni A, Heston L, Uccini S et al. High prevalence of antibodies to human herpesvirus 8 in relatives of patients with classic Kaposi's sarcoma from Sardinia. J Infect Dis 1998; 177:1715-8.
9. Barresinoussi F, Chermann JC, Rey F et al. Isolation of A T-Lymphotropic Retrovirus from A Patient at Risk for Acquired Immune-Deficiency Syndrome (Aids). Science 1983; 220:868-71.
10. Beral V. Epidemiology of Kaposi-Sarcoma. Cancer Surveys 1991; 10:5-22.
11. Beral V, Peterman TA, Berkelman RL, and Jaffe HW. Kaposi Sarcoma Among Persons with Aids - A Sexually-Transmitted Infection. Lancet 1990; 335:123-8.
12. Bienz KA. Virologie. In: Kayser FH, Bienz KA, Eckert J., and Zinkernagel R.M. eds. 9th. Stuttgart: Thieme, 1998:380-482.
13. Biggar RJ, Whitby D, Marshall V, Linhares AC, and Black F. Human herpesvirus 8 in Brazilian Amerindians: a hyperendemic population with a new subtype. J Infect Dis 2000; 181:1562-8.

14. Blackbourn DJ, Ambroziak J, Lennette E, Adams M, Ramachandran B, and Levy JA. Infectious human herpesvirus 8 in a healthy North American blood donor. *Lancet* 1997; 349:609-11.
15. Blackbourn DJ, Lennette ET, Ambroziak J, Mourich DV, and Levy JA. Human herpesvirus 8 detection in nasal secretions and saliva. *Journal of Infectious Diseases* 1998; 177:213-6.
16. Blackbourn DJ, Osmond D, Levy JA, and Lennette ET. Increased human herpesvirus 8 seroprevalence in young homosexual men who have multiple sex contacts with different partners. *J Infect Dis* 1999; 179:237-9.
17. Blauvelt A. The role of human herpesvirus 8 in the pathogenesis of Kaposi's sarcoma. *Adv Dermatol* 1999; 14:167-206.
18. Blauvelt A, Sei S, Cook PM, Schulz TF, and Jeang KT. Human herpesvirus 8 infection occurs following adolescence in the United States. *J Infect Dis* 1997; 176:771-4.
19. Boom R, Sol CJ, Salimans MM, Jansen CL, Wertheim-van Dillen PM, and van der NJ. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J Clin Microbiol* 1990; 28:495-503.
20. Bourboulia D, Whitby D, Boshoff C et al. Serologic evidence for mother-to-child transmission of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection. *Jama-Journal of the American Medical Association* 1998; 280:31-2.
21. Brayfield BP, Phiri S, Kankasa C et al. Postnatal human herpesvirus 8 and human immunodeficiency virus type 1 infection in mothers and infants from Zambia. *J Infect Dis* 2003; 187:559-68.
22. Brousset P, Meggetto F, Attal M, and Delsol G. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection and multiple myeloma. *Science* 1997; 278:1972-3.
23. Calabro ML, Gasperini P, Barbierato M et al. A search for human herpesvirus 8 (HHV-8) in HIV-1 infected mothers and their infants does not suggest vertical transmission of HHV-8. *Int J Cancer* 2000; 85:296-7.
24. Calabro ML, Gasperini P, Fiore JR, Barbierato M, Angarano G, and Chieco-Bianchi L. Intrafamilial transmission of human herpesvirus 8. *Journal of the National Cancer Institute* 2001; 93:154-6.
25. Cannon MJ, Dollard SC, Black JB et al. Risk factors for Kaposi's sarcoma in men seropositive for both human herpesvirus 8 and human immunodeficiency virus. *AIDS* 2003; 17:215-22.
26. Cannon MJ, Dollard SC, Smith DK et al. Blood-borne and sexual transmission of human herpesvirus 8 in women with or at risk for human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 2001; 344:637-43.
27. Casper C, Wald A, Pauk J, Tabet SR, Corey L, and Celum CL. Correlates of prevalent and incident Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection in men who have sex with men. *J Infect Dis* 2002; 185:990-3.

-
28. Cathomas G. Human herpes virus 8: a new virus discloses its face. *Virchows Archiv* 2000; 436:195-206.
 29. Cesarman E and Knowles DM. The role of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV/HHV-8) in lymphoproliferative diseases. *Seminars in Cancer Biology* 1999; 9:165-74.
 30. Chandra A, Demirhan I, Massambu C et al. Cross-talk between human herpesvirus 8 and the transactivator protein in the pathogenesis of Kaposi's sarcoma in HIV-infected patients. *Anticancer Res* 2003; 23:723-8.
 31. Chang Y, Cesarman E, Pessin MS et al. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science* 1994; 266:1865-9.
 32. Chauhan D, Bharti A, Raje N et al. Detection of Kaposi's sarcoma herpesvirus DNA sequences in multiple myeloma bone marrow stromal cells. *Blood* 1999; 93:1482-6.
 33. Coffin J, Haase A, Levy JA et al. Human Immunodeficiency Viruses. *Science* 1986; 232:697.
 34. Cook PM, Whitby D, Calabro ML et al. Variability and evolution of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in Europe and Africa. International Collaborative Group. *AIDS* 1999; 13:1165-76.
 35. Dahl H, Fjaertoft G, Norsted T, Wang FZ, Mousavi-Jazi M, and Linde A. Reactivation of human herpesvirus 6 during pregnancy. *J Infect Dis* 1999; 180:2035-8.
 36. Diamond C, Huang ML, Kedes DH et al. Absence of detectable human herpesvirus 8 in the semen of human immunodeficiency virus-infected men without Kaposi's sarcoma. *J Infect Dis* 1997; 176:775-7.
 37. Doerr HW. Cytomegalovirus infection in pregnancy. *J Virol Methods* 1987; 17:127-32.
 38. Du MQ, Liu HX, Diss TC et al. Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infects monotypic (IgM lambda) but polyclonal naive B cells in Castleman disease and associated lymphoproliferative disorders. *Blood* 2001; 97:2130-6.
 39. Dukers NHTM, Renwick N, Prins M et al. Risk factors for human herpesvirus 8 seropositivity and seroconversion in a cohort of homosexual men. *American Journal of Epidemiology* 2000; 151:213-24.
 40. Engels EA, Eastman H, Ablashi DV, Wilks RJ, Braham J, and Manns A. Risk of transfusion-associated transmission of human herpesvirus 8. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91:1773-5.
 41. Ensoli B, Sgadari C, Barillari G, Sirianni MC, Sturzl M, and Monini P. Biology of Kaposi's sarcoma. *European Journal of Cancer* 2001; 37:1251-69.
 42. Falke D and Mölling K. Allgemeine Virologie. In: Hahn H, Falke D, Kaufmann SHE, and Ullmann U eds. 3rd. Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 1999:466.
 43. Forbes BA. Acquisition of cytomegalovirus infection: an update. *Clin Microbiol Rev* 1989; 2:204-16.

-
44. Fujimuro M, Wu FY, ApRhys C et al. A novel viral mechanism for dysregulation of beta-catenin in Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus latency. *Nature Medicine* 2003; 9:300-6.
 45. Gaidano G, Capello D, Pastore C et al. Analysis of human herpesvirus type 8 infection in AIDS-related and AIDS- unrelated primary central nervous system lymphoma. *J Infect Dis* 1997; 175:1193-7.
 46. Gallo RC, Sarin PS, Gelmann EP et al. Isolation of Human T-Cell Leukemia-Virus in Acquired Immune-Deficiency Syndrome (Aids). *Science* 1983; 220:865-7.
 47. Gao SJ, Kingsley L, Li M et al. KSHV antibodies among Americans, Italians and Ugandans with and without Kaposi's sarcoma. *Nature Medicine* 1996; 2:925-8.
 48. Gehrz RC, Christianson WR, Linner KM, Conroy MM, McCue SA, and Balfour HH, Jr. Cytomegalovirus-specific humoral and cellular immune responses in human pregnancy. *J Infect Dis* 1981; 143:391-5.
 49. Gerna G, Baldanti F, Middeldorp JM et al. Clinical significance of expression of human cytomegalovirus pp67 late transcript in heart, lung, and bone marrow transplant recipients as determined by nucleic acid sequence-based amplification. *J Clin Microbiol* 1999; 37:902-11.
 50. Gessain A, Mauclore P, van Beveren M et al. Human herpesvirus 8 primary infection occurs during childhood in Cameroon, Central Africa. *Int J Cancer* 1999; 81:189-92.
 51. Goedert JJ, Kedes DH, and Ganem D. Antibodies to human herpesvirus 8 in women and infants born in Haiti and the USA. *Lancet* 1997; 349:1368.
 52. Gratacap-Cavallier B, Bosson JL, Morand P et al. Cytomegalovirus seroprevalence in French pregnant women: parity and place of birth as major predictive factors. *Eur J Epidemiol* 1998; 14:147-52.
 53. Greenblatt RM, Jacobson LP, Levine AM et al. Human herpesvirus 8 infection and Kaposi's sarcoma among human immunodeficiency virus-infected and -uninfected women. *J Infect Dis* 2001; 183:1130-4.
 54. Gutierrez-Ortega P, Hierro-Orozco S, Sanchez-Cisneros R, and Montano LF. Kaposi's sarcoma in a 6-day-old infant with human immunodeficiency virus. *Arch Dermatol* 1989; 125:432-3.
 55. Harrington W, Sieczkowski L, Sosa C et al. Activation of HHV-8 by HIV-1 tat. *Lancet* 1997; 349:774-5.
 56. He J, Bhat G, Kankasa C et al. Seroprevalence of human herpesvirus 8 among Zambian women of childbearing age without Kaposi's sarcoma (KS) and mother-child pairs with KS. *J Infect Dis* 1998; 178:1787-90.
 57. Herold G. Wichtige Infektionskrankheiten. In: Herold G ed. Köln: Herold, G., 1998:675-725.
 58. Hoffmann C and Kamps BS. HIV.NET 2004. Steinhäuser Verlag, 2004.

-
59. Holland PM, Abramson RD, Watson R, and Gelfand DH. Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'----3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88:7276-80.
 60. Hollingsworth RC, Sillekens P, van Deursen P, Neal KR, and Irving WL. Serum HCV RNA levels assessed by quantitative NASBA: stability of viral load over time, and lack of correlation with liver disease. The Trent HCV Study Group. *J Hepatol* 1996; 25:301-6.
 61. Howard MR, Whitby D, Bahadur G et al. Detection of human herpesvirus 8 DNA in semen from HIV-infected individuals but not healthy semen donors. *AIDS* 1997; 11:F15-F19.
 62. Huang LM, Chao MF, Chen MY et al. Reciprocal regulatory interaction between human herpesvirus 8 and human immunodeficiency virus type 1. *J Biol Chem* 2001; 276:13427-32.
 63. Jenner RG and Boshoff C. The molecular pathology of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *Biochimica et Biophysica Acta-Reviews on Cancer* 2002; 1602:1-22.
 64. Kasolo FC, Mpabalwani E, and Gompels UA. Infection with AIDS-related herpesviruses in human immunodeficiency virus-negative infants and endemic childhood Kaposi's sarcoma in Africa. *Journal of General Virology* 1997; 78:847-56.
 65. Kaur R, Gupta N, Nair D, Kakkar M, and Mathur MD. Screening for TORCH infections in pregnant women: a report from Delhi. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1999; 30:284-6.
 66. Kedes DH, Ganem D, Ameli N, Bacchetti P, and Greenblatt R. The prevalence of serum antibody to human herpesvirus 8 (Kaposi sarcoma-associated herpesvirus) among HIV-seropositive and high-risk HIV-seronegative women. *Jama-Journal of the American Medical Association* 1997; 277:478-81.
 67. Kedes DH, Operskalski E, Busch M, Kohn R, Flood J, and Ganem D. The seroepidemiology of human herpesvirus 8 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus): Distribution of infection in KS risk groups and evidence for sexual transmission. *Nature Medicine* 1996; 2:918-24.
 68. Kelly GD, Ensoli B, Gunthel CJ, and Offermann MK. Purified Tat induces inflammatory response genes in Kaposi's sarcoma cells. *AIDS* 1998; 12:1753-61.
 69. Kikuta H, Itakura O, Ariga T, and Kobayashi K. Detection of human herpesvirus 8 DNA sequences in peripheral blood mononuclear cells of children. *J Med Virol* 1997; 53:81-4.
 70. Kleinman D, Sarov I, and Insler V. Reactivation of cytomegalovirus in endometrial cells by estradiol. *Gynecol Obstet Invest* 1986; 21:136-43.
 71. Knipe DM and Howley PM. *Fields' Virology*. Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
 72. Koelle DM, Huang ML, Chandran B, Vieira J, Piepkorn M, and Corey L. Frequent detection of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) DNA in

- saliva of human immunodeficiency virus-infected men: clinical and immunologic correlates. *J Infect Dis* 1997; 176:94-102.
73. Kogler G, Callejas J, Hakenberg P et al. Hematopoietic transplant potential of unrelated cord blood: critical issues. *J Hematother* 1996; 5:105-16.
 74. Korber BT, Osmanov S, Esparza J, and Myers G. The World Health Organization Global Programme on AIDS proposal for standardization of HIV sequence nomenclature. WHO Network for HIV Isolation and Characterization. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1994; 10:1355-8.
 75. Korge B. Kaposi-Sarkom-assoziierte humane Herpes-8-Virusinfektion. *Der Hautarzt* 2003; 54:389-90.
 76. Lawn SD, Butera ST, and Folks TM. Contribution of immune activation to the pathogenesis and transmission of human immunodeficiency virus type 1 infection. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14:753-77, table.
 77. Lennette ET, Blackbourn DJ, and Levy JA. Antibodies to human herpesvirus type 8 in the general population and in Kaposi's sarcoma patients. *Lancet* 1996; 348:858-61.
 78. Lucchini A, Dal Conte I, and Di Perri G. Mucosal shedding of human herpesvirus 8. *New England Journal of Medicine* 2001; 344:691.
 79. Luppi M, Barozzi P, Santagostino G et al. Molecular evidence of organ-related transmission of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus or human herpesvirus-8 in transplant patients. *Blood* 2000; 96:3279-81.
 80. Luppi M, Barozzi P, Schulz TF et al. Bone marrow failure associated with human herpesvirus 8 infection after transplantation. *New England Journal of Medicine* 2000; 343:1378-85.
 81. Lyall EG, Patton GS, Sheldon J et al. Evidence for horizontal and not vertical transmission of human herpesvirus 8 in children born to human immunodeficiency virus-infected mothers. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18:795-9.
 82. Mackenzie J, Sheldon J, Morgan G, Cook G, Schulz TF, and Jarrett RF. HHV-8 and multiple myeloma in the UK. *Lancet* 1997; 350:1144-5.
 83. Manji KP, Amir H, and Maduhu IZ. Aggressive Kaposi's sarcoma in a 6-month-old African infant: case report and review of the literature. *Trop Med Int Health* 2000; 5:85-7.
 84. Manns A, Strickler HD, Hanchard B, Manassaram DM, Waters D, and Ablashi DV. Age- and sex-specific seroprevalence of human herpesvirus 8 in Jamaica. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90:1102-4.
 85. Mantina H, Kankasa C, Klaskala W et al. Vertical transmission of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *International Journal of Cancer* 2001; 94:749-52.
 86. Marcelin AG, Dupin N, Bouscary D et al. HHV-8 and multiple myeloma in France. *Lancet* 1997; 350:1144.

-
87. Marcelin AG, Roque-Afonso AM, Hurtova M et al. Fatal disseminated Kaposi's sarcoma following human herpesvirus 8 primary infections in liver-transplant recipients. *Liver Transpl* 2004; 10:295-300.
 88. Marmor M, Friedman-Kien AE, Laubenstein L et al. Risk factors for Kaposi's sarcoma in homosexual men. *Lancet* 1982; 1:1083-7.
 89. Marshall GS, Rabalais GP, Stewart JA, and Dobbins JG. Cytomegalovirus seroprevalence in women bearing children in Jefferson County, Kentucky. *Am J Med Sci* 1993; 305:292-6.
 90. Martin JN, Ganem DE, Osmond DH, Page-Shafer KA, Macrae D, and Kedes DH. Sexual transmission and the natural history of human herpesvirus 8 infection. *N Engl J Med* 1998; 338:948-54.
 91. Martius J. Infektionen in der Schwangerschaft. In: Pfleiderer A, Breckwoldt M, and Martius G eds. 3rd. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2000:355-368.
 92. Marto E, Bulterys M, Stewart JA et al. Comparison of human herpesvirus 8 and Epstein-Barr virus seropositivity among children in areas endemic and non-endemic for Kaposi's sarcoma. *J Med Virol* 2004; 72:126-31.
 93. Masood R, Zheng T, Tulpule A et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection and multiple myeloma. *Science* 1997; 278:1970-1.
 94. Mayama S, Cuevas LE, Sheldon J et al. Prevalence and transmission of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) in Ugandan children and adolescents. *Int J Cancer* 1998; 77:817-20.
 95. McGeoch DJ and Davison AJ. The descent of human herpesvirus 8. *Seminars in Cancer Biology* 1999; 9:201-9.
 96. Melbye M, Cook PM, Hjalgrim H et al. Risk factors for Kaposi's-sarcoma-associated herpesvirus (KSHV/HHV-8) seropositivity in a cohort of homosexual men, 1981-1996. *International Journal of Cancer* 1998; 77:543-8.
 97. Mesri EA, Cesarman E, Arvanitakis L et al. Human herpesvirus-8/Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus is a new transmissible virus that infects B cells. *Journal of Experimental Medicine* 1996; 183:2385-90.
 98. Miller G, Rigsby MO, Heston L et al. Antibodies to butyrate-inducible antigens of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in patients with HIV-1 infection. *New England Journal of Medicine* 1996; 334:1292-7.
 99. Milliancourt C, Barete S, Marcelin AG et al. Human herpesvirus-8 seroconversions after renal transplantation. *Transplantation* 2001; 72:1319-20.
 100. Mitsuyasu RT, Taylor JM, Glaspy J, and Fahey JL. Heterogeneity of epidemic Kaposi's sarcoma. Implications for therapy. *Cancer* 1986; 57:1657-61.
 101. Modrow S, Falke D, and Truyen U. Retroviren. In: Modrow S, Falke D, and Truyen U. eds. 2nd. Heidelberg: Spektrum, 2003:390-448.

-
102. Modrow S, Falke D., and Truyen U. Herpesviren. In: Modrow S, Falke D, and Truyen U. eds. 2nd. Heidelberg: Spektrum, 2003:540-613.
 103. Monini P, deLellis L, Fabris M, Rigolin F, and Cassai E. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus DNA sequences in prostate tissue and human semen. *New England Journal of Medicine* 1996; 334:1168-72.
 104. Moore PS, Gao SJ, Dominguez G et al. Primary characterization of a herpesvirus agent associated with Kaposi's sarcoma. *Journal of Virology* 1996; 70:549-58.
 105. Moore PS, Kingsley LA, Holmberg SD et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection prior to onset of Kaposi's sarcoma. *AIDS* 1996; 10:175-80.
 106. Morini M, Benelli R, Giunciuglio D et al. Kaposi's sarcoma cells of different etiologic origins respond to HIV-Tat through the flk-1/KDR (VEGFR-2): Relevance in AIDS-KS pathology. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2000; 273:267-71.
 107. Munker R, Tasaka T, Park D, Miller CW, and Koeffler HP. HHV-8 (KSHV) does not establish latency in prostate cancer cell lines. *Prostate* 1997; 33:286-8.
 108. Nocera A, Corbellino M, Valente U et al. Posttransplant human herpes virus 8 infection and seroconversion in a Kaposi's sarcoma affected kidney recipient transplanted from a human herpes virus 8 positive living related donor. *Transplant Proc* 1998; 30:2095-6.
 109. O'Brien TR, Kedes D, Ganem D et al. Evidence for concurrent epidemics of human herpesvirus 8 and human immunodeficiency virus type 1 in US homosexual men: rates, risk factors, and relationship to Kaposi's sarcoma. *J Infect Dis* 1999; 180:1010-7.
 110. Oksenhendler E, Cazals-Hatem D, Schulz TF et al. Transient angiolymphoid hyperplasia and Kaposi's sarcoma after primary infection with human herpesvirus 8 in a patient with human immunodeficiency virus infection. *New England Journal of Medicine* 1998; 338:1585-90.
 111. Oksenhendler E, Duarte M, Soulier J et al. Multicentric Castleman's disease in HIV infection: A clinical and pathological study of 20 patients. *AIDS* 1996; 10:61-7.
 112. Parravicini C, Lauri E, Baldini L et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection and multiple myeloma. *Science* 1997; 278:1969-70.
 113. Pauk J, Huang ML, Brodie SJ et al. Mucosal shedding of human herpesvirus 8 in men. *New England Journal of Medicine* 2000; 343:1369-77.
 114. Pellett PE, Spira TJ, Bagasra O et al. Multicenter comparison of PCR assays for detection of human herpesvirus 8 DNA in semen. *J Clin Microbiol* 1999; 37:1298-301.
 115. Plancoulaine S, Abel L, van Beveren M, and Gessain A. High Titers of anti-human herpesvirus 8 antibodies in elderly males in an endemic population. *Journal of the National Cancer Institute* 2002; 94:1333-5.
 116. Plancoulaine S, Abel L, van Beveren M et al. Human herpesvirus 8 transmission from mother to child and between siblings in an endemic population. *Lancet* 2000; 356:1062-5.

117. Poole LJ, Zong JC, Ciufo DM et al. Comparison of genetic variability at multiple loci across the genomes of the major subtypes of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus reveals evidence for recombination and for two distinct types of open reading frame K15 alleles at the right-hand end. *J Virol* 1999; 73:6646-60.
118. Prabhakar P, Bailey A, Smikle MF, McCaw-Binns A, and Ashley D. Seroprevalence of toxoplasma gondii, rubella virus, cytomegalovirus herpes simplex virus (TORCH) and syphilis in Jamaican pregnant women. *West Indian Med J* 1991; 40:166-9.
119. Preiser W, Szep NI, Lang D, Doerr HW, and Rabenau HF. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus seroprevalence in selected German patients: evaluation by different test systems. *Medical Microbiology and Immunology* 2001; 190:121-7.
120. Rabkin CS, Schulz TF, Whitby D et al. Interassay correlation of human herpesvirus 8 serologic tests. *Journal of Infectious Diseases* 1998; 178:304-9.
121. Ray K and Mahajan M. Seroprevalence of cytomegalovirus antibodies in patients attending STD and antenatal clinics. *J Commun Dis* 1997; 29:85-90.
122. Regamey N, Cathomas G, Schwager M, Wernli M, Harr T, and Erb P. High human herpesvirus 8 seroprevalence in the homosexual population in Switzerland. *Journal of Clinical Microbiology* 1998; 36:1784-6.
123. Regamey N, Tamm M, Wernli M et al. Transmission of human herpesvirus 8 infection from renal-transplant donors to recipients. *New England Journal of Medicine* 1998; 339:1358-63.
124. Regezi JA, Macphail LA, Daniels TE, DeSouza YG, Greenspan JS, and Greenspan D. Human immunodeficiency virus-associated oral Kaposi's sarcoma. A heterogeneous cell population dominated by spindle-shaped endothelial cells. *Am J Pathol* 1993; 143:240-9.
125. Renne R, Lagunoff M, Zhong WD, and Ganem D. The size and conformation of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) DNA in infected cells and virions. *Journal of Virology* 1996; 70:8151-4.
126. Renne R, Zhong WD, Herndier B et al. Lytic growth of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) in culture. *Nature Medicine* 1996; 2:342-6.
127. Renwick N, Dukers NH, Weverling GJ et al. Risk factors for human herpesvirus 8 infection in a cohort of drug users in the Netherlands, 1985-1996. *J Infect Dis* 2002; 185:1808-12.
128. Rettig MB, Ma HJ, Vescio RA et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection of bone marrow dendritic cells from multiple myeloma patients. *Science* 1997; 276:1851-4.
129. Rezza G, Lennette ET, Giuliani M et al. Prevalence and determinants of anti-lytic and anti-latent antibodies to human herpesvirus-8 among Italian individuals at risk of sexually and parenterally transmitted infections. *Int J Cancer* 1998; 77:361-5.
130. Roizman B. Herpesviridae: A Brief Introduction. In: Fields BN, Knipe DM, Chanock RM et al eds. 2nd. New York: Raven Press, 1990:1787-1793.

-
131. Roizman B. New Viral Footprints in Kaposi-Sarcoma. *New England Journal of Medicine* 1995; 332:1227-8.
 132. Russo JJ, Bohenzky RA, Chien MC et al. Nucleotide sequence of the Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (HHV8). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1996; 93:14862-7.
 133. Said JW, Shintaku IP, Asou H et al. Herpesvirus 8 inclusions in primary effusion lymphoma: report of a unique case with T-cell phenotype. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 123:257-60.
 134. Sambrook J, Fritsch EF, and Maniatis T. *Molecular cloning. A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
 135. Sarmati L, Carlo T, Rossella S et al. Human herpesvirus-8 infection in pregnancy and labor: lack of evidence of vertical transmission. *J Med Virol* 2004; 72:462-6.
 136. Schleiss MR. Vertically transmitted herpesvirus infections. *Herpes* 2003; 10:4-11.
 137. Scholz H. Häufigkeit der konnatalen Zytomegalie in der Bundesrepublik Deutschland. *Monatsschr Kinderheilkd* 2000; 148:887-90.
 138. Schoub BD, Johnson S, McAnerney JM et al. Is antenatal screening for rubella and cytomegalovirus justified? *S Afr Med J* 1993; 83:108-10.
 139. Schulz TF. KSHV (HHV8) infection. *Journal of Infection* 2000; 41:125-9.
 140. Schulz TF. KSHV/HHV8-associated lymphoproliferations in the AIDS setting. *European Journal of Cancer* 2001; 37:1217-26.
 141. Schwamborn, K., Krempe, C., Kögler, G., Wernet, P., and Adams, O. Human Herpesvirus 8: Seroepidemiology among pregnant woman and detection of virus-DNA in maternal and cord blood cells. 2005.
Ref Type: Unpublished Work
 142. Serraino D, Locatelli M, Songini M et al. Human herpes virus-8 infection among pregnant women and their children: results from the Sardinia-IDDM Study 2. *Int J Cancer* 2001; 91:740-1.
 143. Serraino D, Tedeschi RM, Songini M et al. Prevalence of antibodies to human herpesvirus 8 in children from Sardinia and Croatia. *Infection* 2000; 28:336-8.
 144. Shanmugam J, Raveendranath M, and Nair VR. Seroprevalence of rubella and cytomegalovirus (CMV) infection in pregnant women from Kerala State. *J Indian Assoc Commun Dis* 1982; 5:58-63.
 145. Simpson GR, Schulz TF, Whitby D et al. Prevalence of Kaposi's sarcoma associated herpesvirus infection measured by antibodies to recombinant capsid protein and latent immunofluorescence antigen. *Lancet* 1996; 348:1133-8.

-
146. Sitas F, Carrara H, Beral V et al. Antibodies against human herpesvirus 8 in black South African patients with cancer. *New England Journal of Medicine* 1999; 340:1863-71.
 147. Smith MS, Bloomer C, Horvat R, Goldstein E, Casparian JM, and Chandran B. Detection of human herpesvirus 8 DNA in Kaposi's sarcoma lesions and peripheral blood of human immunodeficiency virus-positive patients and correlation with serologic measurements. *J Infect Dis* 1997; 176:84-93.
 148. Smith NA, Sabin CA, Gopal R et al. Serologic evidence of human herpesvirus 8 transmission by homosexual but not heterosexual sex. *J Infect Dis* 1999; 180:600-6.
 149. Soulier J, Grollet L, Oksenhendler E et al. Kaposi Sarcoma-Associated Herpesvirus-Like Dna-Sequences in Multicentric Castlemans Disease. *Blood* 1995; 86:1276-80.
 150. Spira TJ, Lam L, Dollard SC et al. Comparison of serologic assays and PCR for diagnosis of human herpesvirus 8 infection. *Journal of Clinical Microbiology* 2000; 38:2174-80.
 151. Stagno S, Pass RF, Cloud G et al. Primary cytomegalovirus infection in pregnancy. Incidence, transmission to fetus, and clinical outcome. *JAMA* 1986; 256:1904-8.
 152. Staskus KA, Zhong WD, Gebhard K et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus gene expression in endothelial (Spindle) tumor cells. *Journal of Virology* 1997; 71:715-9.
 153. Tedeschi R, Enbom M, Bidoli E, Linde A, De Paoli P, and Dillner J. Viral load of human herpesvirus 8 in peripheral blood of human immunodeficiency virus-infected patients with Kaposi's sarcoma. *J Clin Microbiol* 2001; 39:4269-73.
 154. Tookey PA, Ades AE, and Peckham CS. Cytomegalovirus prevalence in pregnant women: the influence of parity. *Arch Dis Child* 1992; 67:779-83.
 155. Tschachler E. Human herpesvirus type 8. *Der Hautarzt* 2000; 51:623-9.
 156. Verma SC and Robertson ES. Molecular biology and pathogenesis of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus. *Fems Microbiology Letters* 2003; 222:155-63.
 157. Vieira J, Huang ML, Koelle DM, and Corey L. Transmissible Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) in saliva of men with a history of Kaposi's sarcoma. *J Virol* 1997; 71:7083-7.
 158. Vochem M. [CMV infections of the neonate: prevalence, diagnosis, therapy]. *Z Geburtshilfe Neonatol* 2003; 207:114-8.
 159. Wang QJ, Jenkins FJ, Jacobson LP et al. Primary human herpesvirus 8 infection generates a broadly specific CD8(+) T-cell response to viral lytic cycle proteins. *Blood* 2001; 97:2366-73.
 160. Whitby D, Boshoff C, Luppi M, and Torelli G. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection and multiple myeloma. *Science* 1997; 278:1971-2.

-
161. Whitby D, Howard MR, Tenantflowers M et al. Detection of Kaposi-Sarcoma Associated Herpesvirus in Peripheral-Blood of Hiv-Infected Individuals and Progression to Kaposi-Sarcoma. *Lancet* 1995; 346:799-802.
 162. Whitby D, Luppi M, Barozzi P, Boshoff C, Weiss RA, and Torelli G. Human herpesvirus 8 seroprevalence in blood donors and lymphoma patients from different regions of Italy. *Journal of the National Cancer Institute* 1998; 90:395-7.
 163. Whitby D, Luppi M, Sabin C et al. Detection of antibodies to human herpesvirus 8 in Italian children: evidence for horizontal transmission. *British Journal of Cancer* 2000; 82:702-4.
 164. Whitby D, Marshall VA, Bagni RK et al. Genotypic characterization of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in asymptomatic infected subjects from isolated populations. *J Gen Virol* 2004; 85:155-63.
 165. Whitby D, Smith NA, Matthews S et al. Human herpesvirus 8: seroepidemiology among women and detection in the genital tract of seropositive women. *J Infect Dis* 1999; 179:234-6.
 166. Wong A, Tan KH, Tee CS, and Yeo GS. Seroprevalence of cytomegalovirus, toxoplasma and parvovirus in pregnancy. *Singapore Med J* 2000; 41:151-5.
 167. Zhang XQ, Fitzpatrick L, Campbell TB et al. Comparison of the prevalence of antibodies to human herpesvirus 8 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus) in Brazil and Colorado. *Journal of Infectious Diseases* 1998; 178:1488-91.
 168. Zhong WD, Wang H, Herndier B, and Ganem D. Restricted expression of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) genes in Kaposi sarcoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1996; 93:6641-6.
 169. Ziegler JL and KatongoleMbidde E. Kaposi's sarcoma in childhood: An analysis of 100 cases from Uganda and relationship to HIV infection. *International Journal of Cancer* 1996; 65:200-3.
 170. Zong JC, Ciufo DM, Alcendor DJ et al. High-level variability in the ORF-K1 membrane protein gene at the left end of the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus genome defines four major virus subtypes and multiple variants or clades in different human populations. *J Virol* 1999; 73:4156-70.

7 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. O. Adams für die interessante Themenstellung, die Einweisung in die Arbeitstechniken, die hervorragende Betreuung sowie für das in mich gesetzte Vertrauen.

Herrn Prof. Dr. A. Scheid und seinem Nachfolger Herrn Prof. Dr. H. Hengel möchte ich für die Möglichkeit danken, diese Arbeit am Institut für Virologie durchführen zu können.

Frau M. Austrup danke ich für ihre qualifizierte Hilfestellung.

Bei Frau M. Thieme bedanke ich mich für ihre hervorragende Anleitung und Hilfestellung in der Zellkultur.

Allen Mitarbeitern des Instituts für Virologie möchte ich für die angenehme und hilfsbereite Arbeitsatmosphäre danken.

Mein Dank gilt zudem der Eurocord Bank der Universität Düsseldorf für die Bereitstellung der Blutproben der Neugeborenen und die Durchführung der PCR-Amplifikation des nicht-vererbbaeren HLA-DR β Exon 2.

Zu Dank verpflichtet bin ich auch der Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Infektiologie (Station MX01) für die Bereitstellung der Blutproben und die Angaben zum Stadium der HIV-Patienten.

Danken möchte ich auch Frau Prof. Dr. R. Knüchel-Clarke und Herrn Dr. R. Krieg für ihre Unterstützung.

Im besonderen gilt mein Dank meiner Mutter, meiner Schwester und meinem Freund, die mich in jeder Phase der Promotion ermutigt haben und immer zur Seite standen.

8 Publikationen

Im Rahmen dieser Doktorarbeit:

Adams, O., Krempe, C., **Schwamborn, K.**, Kroidl, A., Kögler, G., and Wernet, P. Humanes Herpesvirus 8: Seroprävalenz bei Schwangeren sowie Nukleinsäurenachweis im mütterlichen- und Nabelschnurblut. Poster, Frühjahrstagung der Gesellschaft für Virologie in Dresden 14.-17. März 2001.

Schwamborn, K., Krempe, C., Kögler, G., Wernet, P., and Adams, O. Human Herpesvirus 8: Seroepidemiology among pregnant woman and detection of virus-DNA in maternal and cord blood cells. (in preparation)

Weitere Publikationen:

Krieg, R.C., Reher, K., **Schwamborn, K.**, Liotta, L.A., Petricoin III, E.F., Knüchel, R. Signal-pathway profiling of cells following photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX: phototoxicity goes proteomics. Poster, Proteomic Forum, München. 2003.

Krieg, R.C., Reher, K., **Schwamborn, K.**, Liotta, L.A., Petricoin III, E.F., Knüchel, R.. Signal-pathway profiling of cells undergoing photodynamic therapy with reverse phase liquid protein arrays. Poster, American Association for Cancer Research 94th Annual Meeting, Orlando, FL, USA, 27.-31. März 2004.

Krieg, R.C., **Schwamborn, K.**, Küchel, R. Neue Einblicke in die Wirkmechanismen der photodynamischen Therapie (PDT): Generierung und metabolische Charakterisierung einer PDT-resistenten Zelllinie. Der Pathologe. In press

Schwamborn, K., Krieg, R.C., Grosse, J., Jakse, G., Knüchel, R. Proetomics aus Urin: Methoden, Probleme und Perspektiven. Der Pathologe. In press

Schwamborn, K., Krieg, R.C., Grosse, J., Knüchel, R., Jakse, G. High resolution 2D-gelelectrophoresis in urology: optimization of protein gain of urine samples. Akzeptiert als Poster, XXth EAU Congress, Istanbul, Türkei, 16.-19. März 2005

9 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Kristina Schwamborn
Anschrift: Turpinstr. 17
52066 Aachen
Geburtsdatum /-ort: 09.05.1976 in Wuppertal

Schulbildung:

08/1982 – 07/1986 Katholische Grundschule Südstraße in Schwelm
08/1986 – 07/1995 Märkisches Gymnasium Schwelm
Abschluss: Abitur

Hochschulbildung:

10/1995 – 11/2002 Studium der Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
08/1997 Ärztliche Vorprüfung
08/1998 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
08/2001 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
10/2001 – 05/2002 Praktisches Jahr: Klinikum Wuppertal Barmen
Fächer: Innere Medizin, Radiologie
05/2002 – 08/2002 Praktisches Jahr: Pretoria Academic Hospital, Pretoria (Südafrika), Fach: Chirurgie
11/2002 Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Berufsausbildung:

05/2003 – 05/2004 Ärztin im Praktikum am Institut für Pathologie des Universitätsklinikum Aachen
05/2004 – 05/2005 Ärztin im Praktikum und Assistenzärztin in der Urologischen Klinik des Universitätsklinikum Aachen
Seit 05/2005 Assistenzärztin am Institut für Pathologie des Universitätsklinikum Aachen

Zusammenfassung

Um die Frage nach der Möglichkeit einer vertikalen Übertragung des Humanen Herpesvirus Typ 8 (HHV-8) zu beantworten, wurden zunächst 308 Proben mütterlichen Blutes aus der Eurocord Bank der Universität Düsseldorf auf das Vorhandensein von IgG-Antikörper gegen HHV-8 untersucht. Da nur bei den für positiv befundenen Müttern das Risiko einer Übertragung gegeben ist, wurden diese mit ihren Neugeborenen in das endgültige Untersuchungskollektiv aufgenommen, welches 46 Mutter-Neugeborenen-Paare umfaßte. Im weiteren wurde das Blut der Mütter auf IgM-Antikörper gegen HHV-8, auf IgG- und IgM-Antikörper gegen CMV sowie auf HHV-8-DNA getestet und das der Neugeborenen auf IgG- und IgM-Antikörpern gegen HHV-8 sowie HHV-8-DNA. Lediglich der Nachweis von HHV-8-DNA im Blut der Neugeborenen wurde als Beweis für eine vertikale Übertragung des HHV-8 angesehen.

Die vertikale Übertragung des HHV-8 ist durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit als ein Übertragungsmodus des Virus anzusehen. Bei einem der 46 untersuchten Neugeborenen konnte mittels nested-PCR HHV-8-DNA im Nabelschnurblut nachgewiesen werden, ein Beweis für das Auftreten der postulierten Infektion in utero.

Im Falle des Zytomegalievirus ist nicht nur die vertikale Übertragung beschrieben, sondern ein Zusammenhang zwischen dieser und der Reaktivierung des Virus bzw. einer Primärinfektion mit dem Virus. Die Mutter des Neugeborenen mit positivem Nachweis von HHV-8-DNA wies Antikörper vom Typ IgM gegen HHV-8 auf, welche für das Vorliegen einer Reaktivierung einer bestehenden HHV-8-Infektion oder für eine Primärinfektion mit HHV-8 sprechen. Wie beim Zytomegalievirus könnte somit auch beim HHV-8 im Zuge einer Reaktivierung (bzw. Primärinfektion) die Infektion des Kindes in utero erfolgen.

Der Vergleich der im Immunfluoreszenztest ermittelten Seroprävalenzraten der IgG-Antikörper gegen HHV-8 der beiden Kollektive Mütter (14,9 %) und Neugeborene (89,1 %) mit den Angaben aus der Literatur ergab eine gute Übereinstimmung, was als indirekte Validierung des verwendeten Immunfluoreszenztest zu sehen ist.

Das Kontrollkollektiv, bestehend aus HIV-positiven Patienten, zeigte eine Zunahme der HHV-8-Seroprävalenzrate proportional zur Progredienz der HIV-Erkrankung und antiproportional zur Zahl der CD4-positiven Lymphozyten.