

1 Einleitung

Ein Hauptproblem der modernen Transplantationsmedizin ist der zunehmende Mangel an Spenderorganen von guter Qualität, die ein langfristiges Überleben des Transplantatempfängers ermöglichen. Immer häufiger muss auf Organe zweiter Wahl von Diabetikern und älteren Menschen zurückgegriffen werden. Da die steigende Nachfrage nach geeigneten Organen nicht annähernd gedeckt werden kann und die Wartelisten vor allem für Nieren, aber auch Herzen und Lebern, immer länger werden, sind Vertreter verschiedenster Wissenschaftsbereiche auf der Suche nach Alternativen zur Allotransplantation. Neben der Entwicklung künstlicher Organe und dem *Tissue Engineering* aus omnipotenten Stammzellen gewinnt die Xenotransplantation (XT) immer mehr an Bedeutung. Bevor die XT allerdings Einzug in die routinemäßige klinische Anwendung hält, stehen noch eine Vielzahl von Fragen zur Diskussion. Neben ethischen und rechtlichen Bedenken muss vor allem die Frage der medizinischen Realisierbarkeit ausreichend beantwortet werden. Dazu zählen Fragen zur anatomisch-physiologischen Kompatibilität sowie zur Kontrollierbarkeit immunologischer Abstoßungsreaktionen und zum Infektionsrisiko des Empfängers durch das Transplantat. Das Schwein, phylogenetisch weitentferntverwandt mit dem Menschen (diskordante Spezies) im Gegensatz zu den phylogenetisch nahverwandten Primaten (konkordante Spezies), wird seit den 90er Jahren als favorisierte Organquelle für die XT betrachtet. Das Risiko, dass mit dem porzinen Transplantat Pathogene auf den humanen Empfänger übertragen werden, ist zur Zeit nicht abschätzbar. Während Bakterien, Pilze und Parasiten durch spezifiziert pathogen-freie (SPF) Aufzuchtbedingungen aus Spendertieren eliminiert werden können und auch Therapeutika und Impfstrategien zu ihrer Bekämpfung bereitstehen, ist das für Viren nicht immer der Fall. Neben Retroviren spielen vor allem Herpesviren eine wichtige Rolle, die ubiquitär verbreitet sind und latent im Wirt für unbegrenzte Zeit überdauern können. Herpesviren führen bereits in der Allotransplantation zu Komplikationen. Als Beispiel sei hier das Epstein-Barr-Virus (EBV) genannt, das im immunsupprimierten Transplantatempfänger zu einer mit proliferativen Veränderungen im lymphatischen System verbundenen Erkrankung führt, bekannt unter dem Namen "Post-transplantation lymphoproliferative disease" (PTLD).

Ein wichtiger Vertreter der porzinen Herpesviren ist das erst vor wenigen Jahren entdeckte "Porzine lymphotrope Herpesvirus" (PLHV), von dem mittlerweile drei Spezies bekannt sind. Eine dieser Spezies, das PLHV-1, ist in die Pathogenese einer bei experimentell transplantierten und immunsupprimierten Miniaturschweinen beobachteten Erkrankung involviert, die ähnlich ist zu der EBV-assoziierten PTLD des

Menschen. Aufgrund dieser Beobachtung besteht das potenzielle Risiko, dass PLHV-1 vom Schwein über das Transplantat auf den Menschen übertragen werden und in diesem eine PTLD-ähnliche Erkrankung hervorrufen könnte. Um eine Transspeziesübertragung von PLHV-1 vom Schwein auf den Menschen mit den daraus möglicherweise resultierenden Konsequenzen zu verhindern, müssen spezifische und sensitive Nachweisverfahren entwickelt werden, damit die für die Transplantation gezüchteten Schweine auf eine PLHV-1-Infektion untersucht und infizierte Tiere als Organquelle ausgeschlossen werden können.

Bisher kann der Nachweis von PLHV-Infektion bei Schweinen nur auf molekularbiologischer Ebene mittels Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) erbracht werden. Bei diesen Untersuchungen wurde PLHV in den B-Lymphozyten des Blutes und in den Organen, vor allem in der Milz, nachgewiesen. Die PCR ist demnach keine Methode, mit der man nicht-virämische und latent-infizierte Schweine erkennen kann, ohne sie in Narkose zu legen und Organbiopsien auf PLHV-DNA zu untersuchen. Für die routinemäßige Diagnostik von PLHV-Infektionen bieten sich deshalb indirekte Nachweisverfahren an, mit denen zum Beispiel Antikörper gegen PLHV im Blut nachgewiesen werden können. Diese Methoden haben den Vorteil, dass Antikörper auch noch längere Zeit nach der Infektion, wenn nicht sogar zeitlebens, im Blut vorhanden sind.

Ziel dieser Arbeit war es daher - ergänzend zum molekularbiologischen Nachweis - immunologische Testsysteme für die Diagnostik von PLHV bei Schweinen zu entwickeln und anzuwenden. Dazu sollte unter anderem ein "Enzyme-linked immunosorbent assay" (ELISA) aufgebaut werden. Mit diesem ELISA sollten Untersuchungen zur Seroprävalenz von PLHV in unterschiedlichen Schweinepopulationen erfolgen sowie Kolostrum und Serumproben von Ferkeln auf maternale anti-PLHV-Antikörper untersucht werden. Durch die vergleichende Untersuchung von Jungtieren mittels PCR und ELISA über einen Zeitraum von fünf Monaten – beginnend mit der Geburt – sollte der Infektionszeitpunkt mit PLHV eingegrenzt werden, um dadurch Rückschlüsse ziehen zu können, ob die Erzeugung PLHV-freier Tiere für die Xenotransplantation ein realistisches Ziel ist. Zur Einschätzung einer möglichen *in vivo* Infektion des Menschen sollten humane Serumproben von Gesunden, Schlachtern und Xenotransplantierten auf anti-PLHV-Antikörper untersucht werden. Neben dem ELISA sollten Studien zum Organotropismus von PLHV mittels Immunhistochemie und Immunfluoreszenztest durchgeführt werden. Damit sollte eine Aussage getroffen werden, welches potenzielle Risiko von Organtransplantaten bei der Transplantation auf den Menschen ausgehen könnte. Für die Entwicklung dieser immunologischen

Nachweissysteme wurden Virusproteine prokaryot exprimiert und zur Gewinnung von Antiseren und für Untersuchungen im ELISA und im Western Blot verwendet.