

5. Zusammenfassung in Deutsch und Englisch

Zusammenfassung:

Virusinfektionen sind eine häufige Ursache von entzündlichen Erkrankungen am menschlichen Herzen, wie z.B. der akuten und chronischen Myokarditis, dilatativen Kardiomyopathie oder der koronaren Herzkrankheit, und gelten daher weltweit als eine der Hauptursachen für Morbidität und Mortalität bei kardiovaskulären Erkrankungen. Des Weiteren sind Virusinfektionen im transplantierten Myokard an kardialen Ereignissen beteiligt, die bis zum Transplantatverlust führen können. In der vorliegenden, derzeitig umfangreichsten Prävalenzstudie für kardiotope Viren wurden mit Hilfe der PCR Herzgewebeproben (sowohl Myokard- als auch Herzklappengewebe) aus Herztransplantatempfängern (HTx-Patienten) und Herzspendern untersucht, um die Häufigkeit einzelner in Frage kommender viralen Erreger in erkrankten bzw. gesunden Herzen zu klären. In der Studie eingeschlossen wurden a) kardiotope virale Erreger, für die ein ätiologischer Zusammenhang mit entzündlichen Herzerkrankungen belegt worden ist wie Enteroviren (EV), Adenoviren (ADV), humanes Zytomegalievirus (HCMV), Parvovirus B19 (PVB19) und Influenzavirus (Typ A und B) sowie b) virale Erreger mit bisher unbekanntem Risiko wie die – erst kürzlich in schwedischen Mäusepopulationen beschriebenen – Ljunganviren (LV) und Hantaviren (Typ Puumala und Dobrava).

Die Untersuchung von insgesamt 449 Myokardproben hat hierbei ergeben, dass 34 von 73 HTx-Patienten (47 %) und 48 von 80 Herzspendern (60 %) positiv für mindestens einen der untersuchten Viren waren. Virale Nukleinsäuresequenzen wurden signifikant häufiger in Spendern mit einem Spenderalter über 65 Jahren nachgewiesen als in HTx-Patienten ($P= 0,005$) oder Spendern mit einem Spenderalter unter 65 Jahren ($P= 0,02$). Des Weiteren konnte erstmalig auch ein hoher Befall von subvalvulärem Myokardgewebe (64 %) und Herzklappen (53 %) in 30 Herzklappenspendern nachgewiesen werden. Insgesamt wurde eine hohe Prävalenz von EV (vor allem Coxsackievirus B-ähnlichen Viren) und ADV festgestellt. Weniger häufig wurden HCMV und PVB19 nachgewiesen, denen jedoch ebenfalls eine Bedeutung als kardiotope Erreger zugeschrieben wird. Keine der hier untersuchten Proben war positiv für Influenza-, Ljungan- oder Hantaviren, was eher darauf hinweist, dass die Prävalenz dieser Erreger in humanen Herzgewebe deutlich geringer ist als die an-

derer Viren und dass diese Erreger wahrscheinlich eher eine Rolle bei akuten Infektionen spielen, die nicht den Hauptbestandteil in unserem Patientenkollektiv bildeten. In 88 % der untersuchten Fälle wurde eine hohe Korrelation zwischen den PCR-Befunden und histopathologischen Ergebnissen gezeigt. Im Gegensatz dazu waren die serologischen Ergebnisse der zum Einsatz gekommenen kommerziellen ELISA-Teste weitgehend diskordant (zwischen 4 % und 27 %) hinsichtlich des Nachweises von IgG-Antikörpern, wodurch die potenziell virale Ursache chronischer Krankheitsverläufe übersehen werden kann.

Die Beobachtung, dass Herzexplantate durch verschiedene virale Erreger persistent infiziert sein können, ist sowohl für die Diagnostik und Therapie von entzündlichen Herzerkrankungen von Bedeutung als auch für die Prävention von Komplikationen, die, bedingt durch die im Transplantat vorhandenen Viren, nach einer Transplantation möglicherweise auftreten können. Die sensitive PCR-Technik könnte in Zukunft hilfreich sein, das Risiko einer Virusübertragung vom Spender auf den Empfänger näher zu untersuchen. Die hier beschriebenen Daten sind auch bezüglich der Spenderauswahl von Bedeutung, da bedingt durch das limitierte Angebot geeigneter Spenderorgane die Kriterien zur Spenderauswahl zunehmend gelockert werden. So wird z.B. die Altersbegrenzung der Spender immer mehr angehoben, wodurch immer häufiger Spenderorgane älterer Spender transplantiert werden, die, wie hier gezeigt werden konnte, eine signifikant höhere Prävalenz möglicher Virusinfektionen im Herzen aufweisen als bisher vermutet. Zur Verbesserung des Qualitätsmanagements bei Transplantaten wird ein kombiniertes Verfahren aus PCR-Diagnostik und histopathologischer Evaluierung zur Untersuchung von Biopsiematerialien bzw. Myokardproben auf die Präsenz viraler Erreger vorgeschlagen. Die Virusdiagnostik sollte nach den in dieser Studie belegten neueren Erkenntnissen generell die bekannten kardiotropen viralen Erreger wie EV, ADV, HCMV und PVB19 berücksichtigen sowie weitere virale Erreger, die im Zusammenhang von Spender-bezogenen Infektionen in Alлотransplantaten beschrieben worden sind, z.B. Hepatitis B-, Hepatitis C- und Epstein-Barr-Virus.

Summary:

Virus infections are implicated in the etiology of cardiovascular diseases like acute and chronic myocarditis, dilated cardiomyopathy (DCM) or coronary heart disease (CHD), which are the leading causes of heart failure with a high morbidity and mortality worldwide. Affected individuals may require long-term medical therapy for chronic heart failure with a high economic burden including cardiac transplantation costs. In Germany almost 60 percent of all indications for cardiac transplantation are due to DCM and 27 percent due to CHD. Furthermore, virus infections of the heart have been reported to be potentially implicated in atherosclerosis, coronary vasculopathy, lymphoproliferative disease and graft loss after cardiac allograft transplantation, developments which limit the survival of recipients. Although laboratory diagnosis of viral heart disease has improved in recent years due to molecular techniques such as polymerase chain reaction (PCR) and *in situ* hybridization, these techniques are not yet widely applied. Due to few or controversial data regarding the prevalence of the different possible viral agents in these heart diseases, the aim of this presently most extensive study was to examine myocardial and heart valve tissue samples from explanted hearts of heart transplant (HTx) recipients and heart donors for nucleic acids of myocardiotropic viruses.

To assess the prevalence, myocardial and heart valve tissue samples were analyzed by different PCR methods for screening of viral agents which were linked to inflammatory heart disease, like enteroviruses (EV), adenoviruses (ADV), human cytomegalovirus (HCMV), parvovirus B19 (PVB19) and influenza viruses (type A and B). Additionally, screening was also performed for the newly described Ljungan viruses and the also rodent-derived Hanta viruses (type Puumala and Dobrava) which are suspected to be involved in human heart disease. PCR analysis of 449 myocardial tissue samples from explanted hearts indicated infection in 34 of 73 HTx-recipients (47 percent) and 48 of 80 donors (60 percent). The prevalence of virus infection in donors aged over 65 years was significantly higher than that in HTx-recipients ($P= 0.005$) or donors aged under 65 years ($P= 0.02$). Furthermore, high prevalence of viral DNA could be shown for the first time in subvalvular myocardial tissue (64 percent) and non-coronary valve samples (53 percent) from 30 heart valve donors. The most frequently detected viruses were EV (group B coxsackieviruses) and ADV. HCMV and PVB19 were found less frequently but these viruses should

also be recognized as potential cardiotropic pathogens in patients of all ages. All tested samples were negative for influenza, Ljungan or hanta viruses, indicating low prevalence of these viral agents in human heart tissue compared to the other viruses. Maybe these viruses play only a role in early acute heart diseases, but the majority of the patients tested in our heart study presented diseases with chronic course like DCM and CHD. This should be taken into consideration for future study design and patient selection. While the serological findings and PCR results for different viruses were discordant in 4 to 27 percent of the cases, there was a high correlation (88 percent) between PCR and histopathological findings. The serological results indicated a risk of overlooking the potential viral cause of chronic inflammatory heart disease by using commercial ELISA tests.

The observation that heart explants may be persistently infected by different viral agents is of importance not only for the diagnosis of inflammatory cardiac disease, but also for the prevention of post-transplantation complications. The highly sensitive PCR technique as shown here seems helpful in estimating the risk of virus transmission from donor to recipient. The obtained data are important for virological safety aspects in donor selection, because the criteria for donor selection have become looser, e.g. the age limit of donors was reduced, allowing transplantation of donor organs from older people which, as shown here, demonstrated a significantly higher prevalence of virus infection in the heart. For improvement of virus safety in cardiac transplantation and homograft banking it should be recommended to screen the donor organs and tissues with a multi-technology approach, using PCR in addition to or instead of serological analysis together with histological evaluation. Viral diagnostics should include the known cardiotropic viruses like EV, ADV, HCMV, PVB19, as done in this study, and viral agents of general importance for donor-associated infection in allograft transplantation (e.g. HBV, HCV, and EBV).