

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Medizinische Fakultät der Universität Hamburg

I. Medizinische Klinik und Poliklinik

Professor Dr. med. Ansgar W. Lohse
Professor Dr. med. S. Huber

Serologischer Hinweis, dass eine chronisch inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie (CIDP) eine extrahepatische Manifestation einer Hepatitis-E-Virus-Infektion ist

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Agsin Kjasimov
aus Podolsk

Hamburg 2024

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 15.01.2025**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: PD Dr. Mathias Gelderblom

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: PD Dr. Sven Pischke

Inhaltsverzeichnis

Artikel in Originalversion: „Serological indication of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy as an extrahepatic manifestation of hepatitis E virus infection“

Einleitung.....	4
Material und Methoden.....	5
Ergebnisse.....	7
Diskussion	12
Abbildungen- und Tabellenverzeichnis	15
Abkürzungsverzeichnis.....	16
Zusammenfassung in deutscher Sprache	17
Zusammenfassung in englischer Sprache.....	18
Literaturverzeichnis	19
Erklärung des Eigenanteils an der Publikation	21
Danksagung	22
Lebenslauf.....	23
Eidesstattliche Versicherung	24



OPEN

Serological indication of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy as an extrahepatic manifestation of hepatitis E virus infection

S. Pischke^{1,2,7}✉, A. Kjasimov^{1,7}, T. Skripuletz^{3,7}, C. Casar¹, J. Bannasch^{1,2,4}, M. Mader¹, S. Huber¹, F. Konen³, A. Wolski¹, T. Horvatits^{1,2}, S. Gingele³, S. Peine⁵, J. Hiller⁵, T. Seeliger³, G. Thayssen⁶, M. Lütgehetmann^{2,4}, J. Schulze zur Wiesch^{1,2}, A. Golsari⁶ & M. Gelderblom⁶

Guillain–Barré syndrome and neuralgic amyotrophy have been associated with hepatitis E virus (HEV) genotype 3 infections, while myasthenia gravis (MG) has been associated with HEV genotype 4 infections. However, whether chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP) is associated with HEV infections has not been conclusively clarified yet. 102 CIDP patients, 102 age- and sex-matched blood donors, 61 peripheral neuropathy patients (non-CIDP patients), and 26 MG patients were tested for HEV and anti-HEV IgM and IgG. Sixty-five of the 102 (64%) CIDP patients tested positive for anti-HEV IgG and one (1%) for anti-HEV IgM. No other patient tested positive for anti-HEV IgM. In the subgroup of CIDP patients with initial diagnosis (without previous IVIG treatment), 30/54 (56%) tested positive for anti-HEV IgG. Anti-HEV rates were significantly lower in blood donors (28%), non-CIDP peripheral neuropathy patients (20%), and MG patients (12%). No subject tested positive for HEV viremia. CSF tested negative for in 61 CIDP patients (54 patients with primary diagnosis). The development of CIDP but not non-CIDP polyneuropathy may be triggered by HEV exposure in an HEV genotype 3 endemic region. The increased anti-HEV seroprevalence in CIDP patients is not a consequence of IVIG therapy.

Keywords HEV, Hepatitis E, CIDP, Myasthenia gravis, Anti-HEV-IgG

Hepatitis E virus (HEV) infections can cause liver inflammation and hepatitis and are also linked to various neurological disorders and diseases affecting other organs¹. HEV has also been shown to replicate in vitro in neuronal tissue², and HEV has been repeatedly detected in the cerebrospinal fluid (CSF) of infected individuals with neurological symptoms^{3–6}.

HEV affects both central and peripheral nervous system processes. It has been associated with Guillain–Barré syndrome (GBS) and neuralgic amyotrophy (NA)^{7–10}. Furthermore, detectable HEV in the CSF can persist despite its clearance in blood and feces^{11,12}. All of these studies were conducted in Europe, an area where the consumption of pork endemically transmits the HEV genotype 3¹. Thus, the associations between various neurological diseases and HEV genotype 3 infections are now established¹.

In contrast, a potential association between HEV infections and myasthenia gravis (MG) is still debated. Myasthenia gravis is an autoimmune disease characterized by muscle weakness and fatigue, seems to be mainly B-cell mediated, and is associated with various specific antibodies¹³. In 2014, Belbezier et al.¹⁴ reported the case of an immunocompetent woman with acute HEV infection and concurrent MG. In 2018, Wang et al.¹⁵ reported

¹Department of Medicine, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Martinistrasse 52, 20251 Hamburg, Germany. ²German Center for Infection Research (DZIF), Hamburg-Lübeck-Borstel-Riems Partner Site, Hamburg, Germany. ³Department of Neurology, Hannover Medical School, Hannover, Germany. ⁴Institute for Microbiology and Hygiene, University Medical Centre Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany. ⁵Institute of Transfusion Medicine, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany. ⁶Department of Neurology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany. ⁷These authors contributed equally: S. Pischke, A. Kjasimov and T. Skripuletz ✉email: s.pischke@uke.de

a remarkably high rate of HEV viraemic and anti-HEV-IgM-positive patients in a cohort of 188 patients with MG onset from Beijing. Five percent of these patients ($n = 10$) tested positive for anti-HEV-IgM, and four of these patients were HEV viraemic. HEV Genotyping revealed the common Chinese genotype 4 in all of them. However, this finding has not yet been investigated in European MG patients who are at risk of exposure to HEV GT3 rather than GT4.

Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP) is a rare neurological disorder of the peripheral nervous system¹⁶. CIDP is an immune-mediated neuropathy defined by clinical progression for more than two months and electrodiagnostic evidence of peripheral nerve demyelination¹⁷. The cause of CIDP is considered to be an autoimmune disorder. In contrast to GBS and NA, an association with HEV has not yet been proven for CIDP. CIDP is a rare disease affecting approximately 5 in 100,000 people¹⁶. It commonly occurs in the 6th and 7th decades of life, with males being more commonly affected than females¹⁶. CIDP patients suffer from a range of clinical symptoms¹⁶.

Frequently, CIDP patients develop proximal and distal weakness in their limbs for weeks to months. Difficulties in fine motor skills as well as sensory disturbances are typical. The course of CIDP often rapidly progresses within a few months and can be either continuous or relapsing. A recent study from southern Germany investigated the anti-HEV IgM and IgG seroprevalence in a broad and less well-defined cohort of 99 patients with various neurological diseases¹⁸. In a small subgroup of 28 patients with acute inflammatory demyelinating polyneuropathy (AIDP) or chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP), 25% tested positive or borderline for anti-HEV IgG. However, the study's authors did not specify how many patients had AIDP versus CIDP, leaving the anti-HEV IgG seroprevalence in CIDP patients unclear.

Furthermore, a recent study from Italy showed that patients with CIDP ($n = 82$) had a significantly higher seroprevalence (39%) than the general population (45/269, 17%). The authors concluded that the passive transfer of anti-HEV antibodies through intravenous immunoglobulins (IVIGs) is the most likely explanation for this phenomenon¹⁹.

This study aims to clarify the potential association between HEV exposure and various immunologically modulated neurological disorders of the peripheral nervous system, particularly CIDP, in Europe, where HEV genotype 3 is endemic. Particularly the role of anti-HEV IgG positivity in the context of previous IVIG transfusions should be investigated.

Materials and methods

This study is prospective with retrospective components. The study design and patient recruitment of the prospective part are illustrated in Fig. 1, where 195 individuals were prospectively studied, including 41 CIDP patients from Hamburg, Germany. Furthermore, 91 individuals from Hannover, Germany, including 61 CIDP patients, were retrospectively studied. Hamburg and Hannover are located in northern Germany, are only 160 km apart, and share sociocultural and eating patterns. All patients came from the region of these two cities.

Patients and controls were prospectively recruited from the Hamburg area during the first nine months of 2021. For this cohort, all adult patients of the outpatient clinic for peripheral nervous diseases at the University Medical Center Hamburg-Eppendorf were unselectively invited to participate between May and September 2021. All these patients suffered from chronic peripheral nervous system diseases/polyneuropathies. 67 individuals (41 CIDP patients and 26 non-CIDP patients with peripheral neuropathy) provided written informed consent and were included in the study. Testing for anti-HEV IgG and IgM was conducted using Wantai ELISA tests (Wantai Beijing, China). To confirm anti-HEV IgG positivity, a blot (Mikrogen recomblot, Neuwied Germany) was used according to the manufacturer's instructions, as described previously²⁰. This commercial immunoblot not only confirmed the anti-HEV IgG serostatus, but also classified the antibody response according to HEV epitopes.

PCR was performed with a commercial assay from Altona Diagnostics (Hamburg, Germany).

Retrospective samples from Hannover, collected over the previous decade, were also analyzed after anonymization.

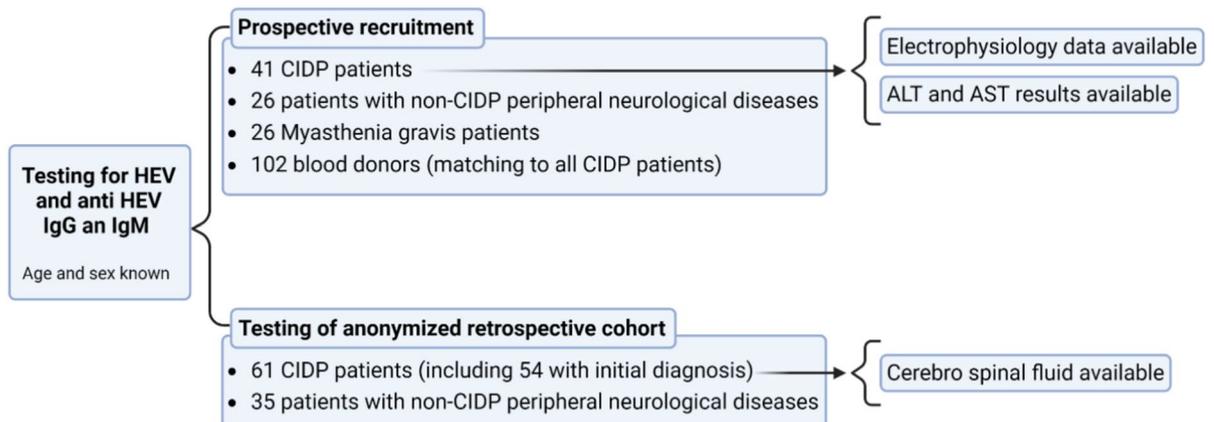


Figure 1. Study design and patient recruitment: 195 prospectively and 96 retrospectively studied individuals.

Additionally, plasma samples from 26 patients with myasthenia gravis (MG) from Hamburg and 102 age- and sex-matched blood donors from Hamburg were serologically tested for anti-HEV IgG and IgM, as well as HEV by PCR.

For organizational reasons, the 26 MG patients were not tested with the Altona diagnostic PCR but with the Roche Cobas TaqMan 6800 PCR (Roche, Hilden, Germany).

To validate the anti-HEV-IgG seroprevalence rate determined in the prospective cohort of 41 CIDP patients from the University Hospital Hamburg Eppendorf, a second cohort of 61 CIDP serum samples and 35 patients with non-CIDP neurological peripheral diseases from Hannover Medical School was tested for anti-HEV IgG and IgM, as well as HEV by PCR.

All CIDP patients ($n = 102$) were compared with an age- and sex-matched control group of 102 blood donors collected at the beginning of 2021. Due to the limited number of blood donors older than 70, exact matching was not possible, resulting in insignificant deviations.

Furthermore, all CIDP patients were tested for anti-CMV IgG (ELISA Viditest, MoBiTec, Goettingen, Germany). To further characterize the specificity of the anti-HEV IgG ELISA (Wantai) in the cohort of CIDP patients, the anti-CMV IgG seroprevalence in this group was compared with the anti-CMV seroprevalence of another cohort. This control group for anti-CMV IgG testing consisted of 553 patients with chronic liver or kidney diseases who were on waiting lists for organ transplantation, none of these patients previously received IVIG treatment.

To identify specific risk factors significantly associated with the previous HEV exposure 66 prospectively studied patients (40 CIDP, 26 non-CIDP) answered a questionnaire (Supplementary Table 1).

This study was approved by the local ethics committees of the Medical Council of Hamburg and the Hannover Medical School (WF-138/20, 9741_BO_S_2021). The study was conducted following the recommendations of the Declaration of Helsinki.

Statistical analysis was performed as follows: continuous variables with a nonnormal distribution are expressed as the median and interquartile range (IQR). Groups were compared using the Mann-Whitney U test. Categorical variables are expressed as numbers (%) and were compared with Fisher's exact test. P values less than 0.05 were considered to indicate statistical significance. Statistical analyses were performed using SPSS, version 21.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

We utilized the R function glm (version 4.2.3, R Foundation for Statistical Computing, Vienna) for logistic regression with anti-HEV status as the response variable and patient group, age, and city of sample origin as independent variables.

Results

As a main finding, significantly more patients with CIDP tested positive for anti-HEV-IgG (64%, 65/102) than did age- and sex-matched blood donors (28%, 29/102), patients with non-CIDP peripheral neuropathy (20%, 12/61) or MG patients (12%, 3/26) ($p = 0.002$ each; Fig. 2). None of these individuals tested positive for HEV RNA by PCR.

In detail, Sixty-one non-CIDP polyneuropathy patients had alcohol toxicity or diabetes-related polyneuropathy ($n = 16$), multifocal motoric neuropathy ($n = 15$), collagenosis-associated neuropathy ($n = 7$), paraneoplastic neuropathy ($n = 4$), or a single rare disease ($n = 19$). The seroprevalence of patients with non-CIDP polyneuropathy (20%) was not significantly different from that of MG patients ($p = 0.55$) or blood donors ($p = 0.27$). Furthermore, the seroprevalence among blood donors did not show a significant difference compared to that among MG patients ($p = 0.13$).

Motor and sensory nerve conduction studies ($n = 41$) from the prospective CIDP cohort, as well as epitope antibody profiling by blot, revealed no significant differences between anti-HEV-positive and anti-HEV-negative individuals (Tables 1 and 2). Unfortunately, these data were not available for the 61 retrospectively and anonymized studied CIDP patients (Fig. 1).

While total IgG levels were within the normal range in all patients with peripheral nerve diseases, total IgG levels were significantly greater in 86 anti-HEV-IgG-positive patients with peripheral nerve diseases (CIDP and non-CIDP) than in 76 negative patients with peripheral nerve diseases (CIDP and non-CIDP). In contrast, neither the total IgG level nor the CIDP-typical antibody pattern significantly differed in the prospectively studied group of 41 CIDP patients in the present study (Table 1).

The CIDP cohort consisted of 41 prospectively enrolled patients from Hamburg and 61 retrospectively studied patients from Hannover. The group of 61 retrospective patients (75% male, aged 32–81 years, mean age of 61 years) with stored and frozen serum samples included 54 patients with an initial diagnosis of CIDP. Among the patients who had never received IVIG, 56% (30/54) tested positive for anti-HEV IgG (Fig. 2). This rate (56%) represents a significantly increased seroprevalence compared to that in the blood donor control group (28%, $p = 0.004$), the non-CIDP cohort (20%, $p = 0.002$) or the MG patients (12%, $p = 0.002$).

Using logistic regression, we found a significantly lower chance of being anti-HEV positive in the healthy control group (OR = 0.105, 95% CI [0.041, 0.254], $p < 0.001$) and in the control group of non-CIDP polyneuropathy patients (OR = 0.094, 95% CI [0.033, 0.242], $p < 0.001$) than in the CIDP group. Age (OR = 1.01, 95% CI [0.989, 1.036], $p > 0.05$) and the city from which the virus originated (OR = 2.2, 95% CI [0.932, 5.49], $p > 0.05$) had no statistically significant effect on anti-HEV status.

Neither age nor time since initial diagnosis differed significantly between anti-HEV IgG-positive and -negative CIDP patients (supplementary Figs. 1 and 2).

All available serum and CSF samples (Fig. 1) tested PCR negative. All but one patient tested anti-HEV IgM negative. This anti-HEV IgM-positive patient was a 73-year-old woman with an initial diagnosis of CIDP. She had not previously received IVIG or other transfusions. However, 9 months earlier, the patient had a neurological

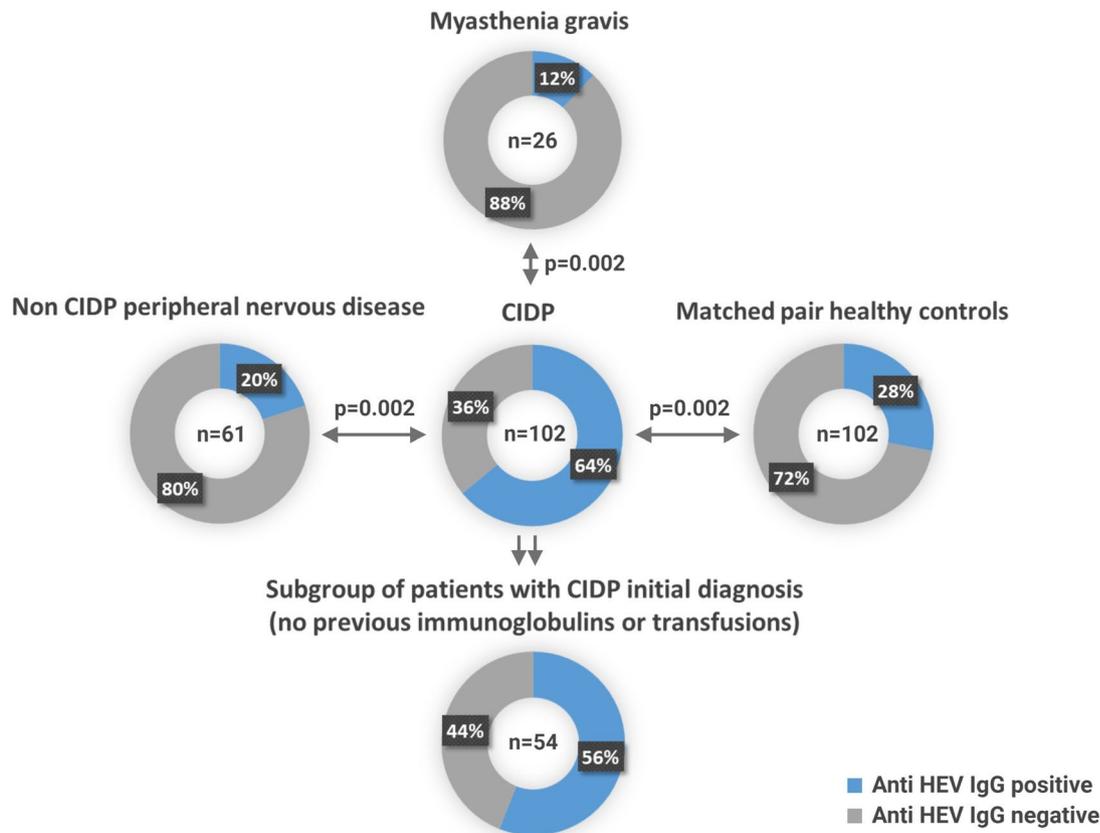


Figure 2. Anti-HEV seroprevalence in different cohorts.

	IgG positive (n = 31)	IgG negative (n = 10)	p value
Sex	23 male (75%)	6 male (60%)	0.5
Age, years	66	65	1.0
IgG total, g/l	7,69	6,53	0.2
ALT, U/ml	27	24	0.7
GM1 IgG, IgM	3	1	1.0
GM2	0	0	1.0
GM3	0	0	1.0
GQ1b IgG	0	2	1.0
GD1b IgM	0	0	1.0

Table 1. Characteristics of prospectively studied CIDP patients (n = 41)* *For data protection reasons, these data were not available for the retrospective cohort from Hannover.

disorder associated with isolated radial nerve damage, and the diagnosis of CIDP could not be made at that time. Fortunately, a serum sample from this episode 9 months before the initial diagnosis of CIDP was still available, and at that time, the patient tested negative for common HEV by PCR, as well as for anti-HEV IgM and anti-HEV IgG. Unfortunately, there was not enough material left to test the patient’s blood sample from this time point for Rat-HEV.

Neither 9 months prior nor at the time of initial diagnosis did the patient have elevated AST or ALT values. No further patients, including those with non-CIDP polyneuropathy and MG tested positive by anti-HEV IgM test nor PCR.

To rule out the possibility that the anti-HEV IgG seroprevalence was due to nonspecific positivity from IVIG administration, we conducted an additional serology test for anti-CMV IgG. In the group of CIDP patients previously treated with IVIG, 98% were anti-CMV IgG positive (46/47). One patient did not have enough material for this test. In contrast, in the group of patients who were initially diagnosed with CIDP, without previous IVIG treatment, significantly fewer (50%) were anti-CMV IgG positive (27/54, $p = 0.002$). In a control group of 553 chronically ill liver or kidney patients (patients on the transplant waiting list, without previous exposure to IVIG), a comparable rate of 58% (323/553) were anti-CMV IgG positive ($p = 0.3$).

	Anti HEV IgG positive (n = 31)	Anti HEV IgG negative (n = 10)	p value
Motor studies			
Distal latency tibial (37/41)**, mean (Std. dev), ms	10.1 (20.7)	6.2 (1.6)	0.3
Distal latency peroneus (27/41)**, mean (Std. dev), ms	6.9 (3.9)	7.7 (4.8)	0.9
Distal latency ulnar 41/41)**, mean (Std. dev), ms	3.8 (1.7)	4.8 (3.0)	0.2
CMAP Amplitude tibial (37/41)**, mean (Std. dev), mV	2.7 (2.6)	1.9 (2.3)	0.6
CMAP Amplitude peroneus (26/41)**, mean (Std. dev), mV	1.8 (1.5)	2.1 (1.8)	0.8
CMAP Amplitude ulnar (41/41)**, mean (Std. dev), mV	5.5 (2.7)	5.6 (2.4)	0.9
Minimal F latency tibial (17/41)**, mean (Std. dev), ms	62.9 (13.5)	64.2 (6.2)	0.8
Minimal F latency peroneus (5/41)**, mean (Std. dev), ms	61.1 (10.1)	45.7 (40.0)	1.0
Minimal F latency ulnar (30/41) **, mean (Std. dev), ms	34.1 (4.7)	33.3 (6.9)	0.9
Sensory studies			
Conduction velocity sural (17/41)**, mean (Std. dev) m/s	42.0 (5.3)	38.9 (6.6)	0.5
Conduction velocity ulnar (22/41)**, mean (Std. dev), m/s	46.8 (7.4)	37.8 (10.5)	0.1
Amplitude sural (17/41)**, mean (Std. dev), μ V	8.8.7 (7.1)	4.5 (2.4)	0.4
Amplitude ulnar (23/42)**, mean (Std. dev), μ V	8.3 (5.6)	7.2 (4.8)	0.7

Table 2. Nerve conduction velocity in 41 prospectively studied anti-HEV IgG-positive and -negative CIDP patients* *For data protection reasons, these data were not available for the retrospective cohort from Hannover. **Due to measurement difficulties and the retrospective assessment of these values, not all parameters were available for all subjects.

We validated the relevant positive anti-HEV IgG tests (Wantai test) in the Hannover CIDP subgroup with an initial diagnosis (no previous IVIG exposure) by testing available serum samples from 31 CIDP patients using a blot (Recomblot, Mikrogen, Neuried, Germany). In 30 of these patients (97%), anti-HEV positivity was confirmed. In contrast, anti-HEV IgG positivity was confirmed by the blot in only two out of four (50%) non-CIDP patients from the Hannover cohort (97% vs. 50%, $p = 0.03$, chi-square test).

Eighteen of the 30 confirmed anti-HEV IgG-positive (Wantai) CIDP patients showed one positive line (all reactive against O2CGT3), 10 tested positive for two lines (all reactive against O2CGT3 and O2CGT1), one patient tested positive for three lines (reactive against O2CGT3, O2CGT1, and O3GT1), and the last patient had four positive lines (reactive against O2CGT3, O2CGT1, O3GT1, and O3GT3) (Table 1).

To gain initial insights into whether anti-HEV IgG-positive and anti-HEV IgG-negative patients differ in terms of clinical severity or symptoms of neurological damage, neurophysiological measurements were prospectively studied in anti-HEV IgG-positive and anti-HEV IgG-negative CIDP patients ($n = 41$). However, no significant differences were found in this pilot study (Table 2).

We interviewed 66 patients with peripheral neuropathies to identify risk factors for contact with HEV and thus anti-HEV IgG seropositivity. The cohort included 40 patients with CIDP (61%) and 26 with non-CIDP (39%), with 38 testing positive for anti-HEV IgG (58%) and 28 testing negative (42%). The interviews covered diet, occupation, hobbies, sexual orientation, number of transfusions, and number of pets (Supplementary Table 1). No chi-square p -value for any of these parameters reached statistical significance. Specifically, pork consumption did not significantly differ between anti-HEV IgG-positive and anti-HEV IgG-negative individuals ($p = 0.651$).

Discussion

Several studies have demonstrated an association between HEV infection and neurological conditions like NA or GBS, which are considered causative parainfectious autoimmune phenomena¹. Our study clearly shows that patients with CIDP, another rare neurological inflammatory disease of the peripheral nervous system, have a significantly increased anti-HEV IgG seroprevalence (65%).

A recently published Italian study on 82 CIDP patients also found a significantly increased anti-HEV seroprevalence¹⁹, similar to our findings. However, unlike our study, the Italian researchers could not exclude IVIG products and transfused anti-HEV antibodies as potential explanations for this observation. Consequently, they interpreted this as the likely cause. CIDP patients generally receive treatment involving IVIG, plasmapheresis, and immunosuppression in various combinations, which have been shown to influence anti-HEV IgG seroprevalence^{21–23}.

A detailed examination of a subgroup of patients with an initial CIDP diagnosis ($n = 54$) was performed in the current study to exclude the influence of these factors. This analysis revealed a significant increase in anti-HEV IgG positivity (56%) in this cohort, which had never received IVIG. In nearly 100% of these patients, IgG positivity was confirmed by a blot test. Therefore, prior exposure to HEV, rather than IVIG-mediated anti-HEV IgG antibodies, is indeed the cause of the heightened anti-HEV seropositivity in CIDP patients.

Although total IgG levels (Invitrogen) were within the normal range in the CIDP cohort, anti-CMV IgG was notably elevated, suggesting the likelihood of nonspecific false-positive serological results in CIDP patients previously treated with IVIG. Specifically, 98% of the 47 patients previously treated with IVIG tested positive for anti-CMV IgG, while only 50% (27/54) of the untreated cohort tested positive for anti-CMV. This seroprevalence

(50%) was slightly lower than the 58% anti-CMV IgG seroprevalence observed in controls with chronic kidney or liver disease (323/553). Therefore, nonspecific serological findings are not a concern in untreated CIDP patients.

A perplexing observation in our study was that total IgG serum levels were higher in CIDP patients who tested positive for anti-HEV compared to those who tested negative, despite all IgG levels being within the normal range. This finding remains inconclusive. It is speculative whether a single previous anti-HEV IgG positive IVIG infusion influenced this phenomenon or if the immune systems of patients with prior HEV exposure were slightly more stimulated and tended to produce more antibodies. Future studies investigating the role of anti-HEV avidity and the HEV-specific T-cell response in anti-HEV positive versus negative CIDP patients will provide more insights.

Currently, it is unknown how many of the anti-HEV IgG-positive CIDP cases can be associated with prior HEV exposure, as false-positive results cannot be entirely ruled out. However, the rate of anti-HEV IgG positivity in the total cohort of CIDP patients (65%) and in the subgroup of untreated CIDP patients, who had never been exposed to IVIG, does not differ significantly but is substantially elevated compared to our control groups and the previously reported seroprevalence of 17% in the adult population in Germany^{24,25}. Therefore, we conclude that prior IVIG therapy does not explain the increased anti-HEV IgG seroprevalence in CIDP patients. However, it remains undetermined to what extent, if any, IVIG has led to positive anti-HEV IgG test results in individual patients without prior HEV exposure.

Furthermore, not all antibodies against other viruses are generally increased in CIDP patients with previous IVIG therapy, as the anti-CMV seroprevalence was not increased. Notably, a previous study in patients with common variable immunodeficiency (CVID) receiving IVIG showed that anti-HEV OD values increased after IVIG infusion but did not reach the positive cut-off²⁶. Additionally, during the COVID-19 pandemic, although anti-SARS-CoV-2 IgG was found in several IVIG preparations, the anti-SARS-CoV-2 IgG serum levels in recipients of these IVIGs were not significantly altered after infusion²⁶. Based on these considerations, it is questionable whether conventional IVIG transfusions can significantly influence the seroprevalence of a single pathogen, including HEV, in a substantial number of patient groups.

Additionally, to ensure that the increased anti-HEV seroprevalence among CIDP patients is not limited to Hamburg, we analyzed a second cohort of CIDP patients from Hannover (Fig. 1). By using two separate cohorts from centers in northern Germany, located 160 km apart, we confirmed that CIDP patients have a significantly higher anti-HEV IgG seroprevalence.

Future studies should investigate larger, multicenter cohorts and longitudinally test both serology and HEV-specific T-cell responses from the onset of CIDP to gain further insights into the dynamics of the disease.

Of note, in the current study, one patient with CIDP tested positive for anti-HEV IgM, suggesting a potential link between HEV exposure and CIDP development. While this single case should not be overinterpreted, it might illustrate a plausible sequence of events: initial HEV exposure leading to mild neurological symptoms, seroconversion, and subsequent CIDP emergence. This would shed light on the relationship between HEV infections and neurological diseases. Initially, it was hypothesized that neurological disorders might stem from viral replication in neuronal cells. However, CIDP, typically considered autoimmune, challenges this view. Traditionally, autoimmunity was thought to target myelin sheaths, but our findings suggest HEVs may play a direct role, possibly initiating misdirected immune responses. This study is also pertinent to understanding myasthenia gravis (MG). While a previous Chinese study linked HEV genotype 4 to MG, our European study found no such association with HEV genotype 3, prevalent in our region. Nonetheless, our cohort of 26 MG patients may not definitively exclude an association, warranting larger studies for validation.

In summary, our study clearly demonstrates an association between HEV exposure and CIDP, a rare immune-mediated neurological disease. We confirm previous findings and show that elevated anti-HEV IgG levels in CIDP patients are not linked to IVIG treatment. However, our study has limitations that future research should address: our cohort of 102 CIDP patients, while substantial for this condition, calls for larger multicenter studies for validation. Additionally, future investigations should explore the immunological findings in more detail (e.g. analysis of the HEV-specific T-cell and B-cell responses, Antibody fine specificity, affinities, and cross-reactivity, or the T and B cell repertoires) since the findings of the current study are solely based on serological findings. Further subgroup analyses did not identify specific clinical or serological features unique to CIDP patients with prior HEV exposure, suggesting a need for larger and more diverse cohorts, including appropriate controls. Moreover, extending research to other neurological diseases, including those treated with IVIG, will help clarify whether previous HEV exposure is specific to CIDP or common across various conditions.

Data availability

Due to privacy and ethical concerns, neither the data nor the source of the data can be made available for confidential patient details. However, the corresponding author (S. Pischke) will happily answer any questions you may have.

Received: 17 May 2024; Accepted: 13 August 2024

Published online: 20 August 2024

References

1. Pischke, S. *et al.* Hepatitis E virus: Infection beyond the liver?. *J. Hepatol.* **66**(5), 1082–1095 (2017).
2. Drave, S. A. *et al.* Extra-hepatic replication and infection of hepatitis E virus in neuronal-derived cells. *J. Viral Hepat.* **23**(7), 512–521 (2016).
3. Abravanel, F. *et al.* Hepatitis E virus quasispecies in cerebrospinal fluid with neurological manifestations. *Vaccines* **9**(10), 1205 (2021).

4. Fritz, M. *et al.* Pathological cerebrospinal fluid findings in patients with neuralgic amyotrophy and acute hepatitis E virus infection. *J. Infect. Dis.* **217**(12), 1897–1901 (2018).
5. Fritz-Weltin, M. *et al.* Acute CNS infections - expanding the spectrum of neurological manifestations of hepatitis E virus?. *J. Neurol. Sci.* **423**, 117387 (2021).
6. Kamar, N. *et al.* Hepatitis E virus and neurologic disorders. *Emerg. Infect. Dis.* **17**(2), 173–179 (2011).
7. van Eijk, J. J. *et al.* Neuralgic amyotrophy and hepatitis E virus infection. *Neurology* **82**(6), 498–503 (2014).
8. van Eijk, J. J. *et al.* Clinical phenotype and outcome of hepatitis E virus-associated neuralgic amyotrophy. *Neurology* **89**(9), 909–917 (2017).
9. Bannasch, J. H. *et al.* HEV-associated neuralgic amyotrophy: A multicentric case series. *Pathogens* **10**(6), 672 (2021).
10. van den Berg, B. *et al.* Guillain-Barre syndrome associated with preceding hepatitis E virus infection. *Neurology* **82**(6), 491–497 (2014).
11. den Drijver, E. P. M. *et al.* Evidence for independent hepatitis E virus replication in the brain. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* **8**(2), e939 (2021).
12. Lhomme, S. *et al.* Persistence of hepatitis E virus in the cerebrospinal fluid despite apparently successful ribavirin therapy. *J. Antimicrob. Chemother.* **77**(8), 2300–2303 (2022).
13. Gilhus, N. E. & Verschuuren, J. J. Myasthenia gravis: Subgroup classification and therapeutic strategies. *Lancet Neurol.* **14**(10), 1023–1036 (2015).
14. Belbezier, A., Deroux, A., Sarrot-Reynauld, F., Larrat, S. & Bouillet, L. Myasthenia gravis associated with acute hepatitis E infection in immunocompetent woman. *Emerg. Infect. Dis.* **20**(5), 908–910 (2014).
15. Wang, L. *et al.* Association of hepatitis E virus infection and myasthenia gravis: A pilot study. *J. Hepatol.* **68**(6), 1318–1320 (2018).
16. Querol, L. *et al.* Systematic literature review of burden of illness in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP). *J. Neurol.* **268**(10), 3706–3716 (2021).
17. Kuwabara, S. & Misawa, S. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1190**, 333–343 (2019).
18. Wiesenfarth, M., Stamminger, T., Zizer, E., Tumani, H. & Ludolph, A. C. Neurological manifestation of HEV infection: Still a rare disease entity?. *J. Neurol.* <https://doi.org/10.1007/s00415-023-11985-8> (2023).
19. Moret, F. *et al.* Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy and HEV antibody status: A case-control study from Lazio, Italy. *J. Neurol. Sci.* **459**, 122959 (2024).
20. Kraef, C. *et al.* Course of HEV viremia and anti-HEV IgM/IgG response in asymptomatic blood donors. *J. Clin. Virol.* **105**, 26–30 (2018).
21. Pischke, S. *et al.* Absence of chronic hepatitis E in a German cohort of common variable immunodeficiency patients. *Infect. Dis. Rep.* **4**(2), e28 (2012).
22. Mallet, V. *et al.* Transmission of hepatitis E virus with plasma exchange in kidney transplant recipients: A retrospective cohort study. *Transplantation* **102**(8), 1351–1357 (2018).
23. Ma, Z., de Man, R. A., Kamar, N. & Pan, Q. Chronic hepatitis E: Advancing research and patient care. *J. Hepatol.* **77**(4), 1109–1123 (2022).
24. Faber, M. *et al.* Hepatitis E virus seroprevalence, seroincidence and seroreversion in the German adult population. *J. Viral Hepat.* **25**(6), 752–758 (2018).
25. Faber, M. S. *et al.* Hepatitis E virus seroprevalence among adults, Germany. *Emerg. Infect. Dis.* **18**(10), 1654–1657 (2012).
26. Svacina, M. K. R. *et al.* Antibody response after COVID-19 vaccination in intravenous immunoglobulin-treated immune neuropathies. *Eur. J. Neurol.* **29**(11), 3380–3388 (2022).

Author contributions

The authors confirm their contribution to the paper as follows: Study conception and design: S.P., A.K., M.G., T.S., J.B., J.S.W. Data collection: J.B., A.K., S.P.A.G., M.M., T.S., M.G., S.G., S.P., J.H., T.S., G.T., M.L. Interpretation of results: S.P., A.K., M.G., T.S., S.G., T.S., C.C. Draft manuscript: S.P., M.G., T.S., A.K., J.S.W., C.C. All authors reviewed the results and approved the final version of the manuscript.

Funding

Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL. This research was funded by the German Center for Infection Research (DZIF), grant number DZIF TI 07.001, and the Else-Kröner-Fresenius-Stiftung, grant number 2019:EKFS10. Both grants were awarded to S.P. J.S.W. was funded by the DFG SFB 1328 A12 and DZIF AD01_007_02. T.S. reports honoraria for lectures and travel grants from Alexion, Alnylam Pharmaceuticals, Argencx, Bayer Vital, Biogen, Celgene, Centogene, CSL Behring, Euroimmun, Janssen, Merck Serono, Novartis, Pfizer, Roche, Sanofi, Siemens, Sobi, Teva, and Viatrix. His research is supported by the German Ministry for Education and Research (BMBF), Bristol-Myers Squibb Foundation for Immuno-Oncology, Claudia von Schilling Foundation, Else Kröner Fresenius Foundation, Hannover Biomedical Research School (HBRS), Alnylam Pharmaceuticals, CSL Behring, Novartis, Sanofi Genzyme, VHV Stiftung. S.G. reports research support from Alnylam Pharmaceuticals, CSL Behring, the Else Kröner Fresenius Foundation, Deutsche Forschungsgemeinschaft and Hannover Biomedical Research School (HBRS), and honoraria for lectures from Alnylam and Merck all outside the submitted work.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Additional information

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1038/s41598-024-70104-3>.

Correspondence and requests for materials should be addressed to S.P.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2024

1. Einleitung

Infektionen mit dem Hepatitis-E-Virus (HEV) können nicht nur zu Leberentzündungen führen, sondern stehen auch in Verbindung mit zahlreichen Erkrankungen anderer Organe, einschließlich verschiedener neurologischer Störungen [1]. Zusätzlich wurde gezeigt, dass HEV in vitro in neuronalem Gewebe repliziert [2] und wiederholt im Liquor cerebrospinalis (CSF) infizierter Personen mit neurologischen Symptomen nachweisbar ist [3-6]. Daher ist davon auszugehen, dass HEV Infektionen das zentrale wie periphere Nervensystem beeinflussen können und mit neurologischen Erkrankungen assoziiert sind.

Sowohl das Guillain-Barré-Syndrom (GBS) als auch die neuralgische Amyotrophie (NA) wurden bereits mit HEV-Infektionen in Verbindung gebracht [7-10]. Zudem wurde beobachtet, dass nachweisbares HEV im CSF persistieren kann, selbst nachdem das Virus im Blut und Fäzes bereits eliminiert wurde [11,12].

All diese Studien wurden in Europa durchgeführt, einer Region, in der der HEV-Genotyp 3 endemisch durch den Verzehr von Schweinefleisch übertragen wird [1]. Daher sind die Verbindungen zwischen verschiedenen neurologischen Erkrankungen und Infektionen mit dem HEV-Genotyp 3 mittlerweile etabliert [1.]

Im Gegensatz dazu wird die mögliche Assoziation zwischen HEV-Infektionen und Myasthenia gravis (MG) weiterhin kontrovers diskutiert. Myasthenia gravis ist eine Autoimmunerkrankung, die durch Muskelschwäche und Ermüdung gekennzeichnet ist. Die Erkrankung scheint vorwiegend B-Zell-vermittelt zu sein und ist mit verschiedenen spezifischen Antikörpern assoziiert [13]. Im Jahr 2014 berichteten Belbezier et al. den Fall einer immunkompetenten Frau mit akuter HEV-Infektion und gleichzeitig auftretender MG [14]. Im Jahr 2018 beschrieben Wang et al. von einer bemerkenswert hohen Rate an HEV-Virämie und Anti-HEV-IgM-positiven Patienten in einer Kohorte von 188 Patienten mit MG-Erstmanifestation in Peking [15]. Fünf Prozent dieser Patienten (n=10) waren positiv für Anti-HEV-IgM, und bei vier dieser Patienten wurde eine HEV-Virämie nachgewiesen. Die Genotypisierung ergab bei allen den in China häufigen Genotyp 4. Diese Erkenntnisse wurden jedoch bisher nicht bei europäischen MG-Patienten untersucht, bei denen am ehesten von einer Exposition gegenüber dem Genotyp 3 auszugehen ist.

Die chronisch entzündliche demyelinisierende Polyneuropathie (CIDP) ist eine seltene neurologische Erkrankung des peripheren Nervensystems [16]. Pathophysiologisch ist es als eine immunvermittelte, peripher entzündliche Neuropathie einzuordnen, die durch einen Krankheitsverlauf von mehr als zwei Monaten und korrespondierende elektroneurographische Hinweise auf periphere Nervendemyelinisierung definiert ist [17]. Diese Form der Polyneuropathie ist eine seltene Krankheit, die etwa 5 von 100.000 Menschen betrifft [16]. Sie tritt häufig im 6. und 7. Lebensjahrzehnt auf, wobei Männer häufiger betroffen sind als Frauen [16]. Die klinische Symptomatik bei den betroffenen Patienten kann sich mitunter vielfältig präsentieren und lässt sich teilweise klinisch nicht sicher zuordnen [16].

Oft entwickeln CIDP-Patienten über Wochen bis Monate hinweg eine meist symmetrisch proximale und distale Schwäche ihrer Gliedmaßen. Schwierigkeiten bei feinmotorischen Fähigkeiten sowie sensorische Störungen sind hierbei nicht untypisch. Der Verlauf von CIDP schreitet häufig innerhalb weniger Monate schnell

voran und kann kontinuierlich oder in Schüben auftreten. Kürzlich wurde in einer Studie aus Süddeutschland die Seroprävalenz von Anti-HEV-IgM und IgG in einer breiteren und weniger definierten Kohorte von 99 Patienten mit verschiedenen neurologischen Erkrankungen untersucht [18]. In einer kleinen Untergruppe von 28 Patienten mit AIDP (akute entzündliche demyelinisierende Polyneuropathie) und CIDP wurden 25 % positiv oder grenzwertig für Anti-HEV-IgG getestet. Leider geht aus der Studie nicht hervor, wie viele der AIDP/CIDP-Kohorte AIDP und wie viele CIDP hatten, sodass die Anti-HEV-IgG-Seroprävalenz bei CIDP-Patienten noch nicht abschließend geklärt ist.

Darüber hinaus zeigte eine kürzlich durchgeführte Studie aus Italien, dass Patienten mit CIDP (n=82) eine signifikant höhere Seroprävalenz (39 %) aufwiesen als Kontrollen aus der allgemeinen Bevölkerung (45/269, 17 %). Die Autoren schlussfolgerten, dass die passive Übertragung von Anti-HEV-Antikörpern durch intravenöse Immunglobuline (IVIGs) die wahrscheinlichste Erklärung für dieses Phänomen ist [19].

In dieser Doktorarbeit sollte der potenzielle Zusammenhang zwischen einer HEV-Exposition und verschiedenen immunologisch modulierten neurologischen Erkrankungen des peripheren Nervensystems, insbesondere CIDP und MG, in Europa, einer Region mit endemischem HEV-Genotyp 3, geklärt werden.

2. Material und Methoden

Diese Studie ist prospektiv mit retrospektiven Anteilen. Das Studiendesign und die Patientenrekrutierung des prospektiven Teils sind in Abbildung 1 dargestellt, wobei 195 Personen prospektiv untersucht wurden, darunter 41 CIDP-Patienten aus Hamburg. Darüber hinaus wurden 91 Personen aus Hannover- einschließlich 61 CIDP-Patienten- retrospektiv untersucht. Hamburg und Hannover liegen im Norden Deutschlands, nur 160 km voneinander entfernt und teilen eine ähnliches soziokulturelle Ernährungsverhalten. Alle Patienten stammten aus der Region dieser beiden Städte.

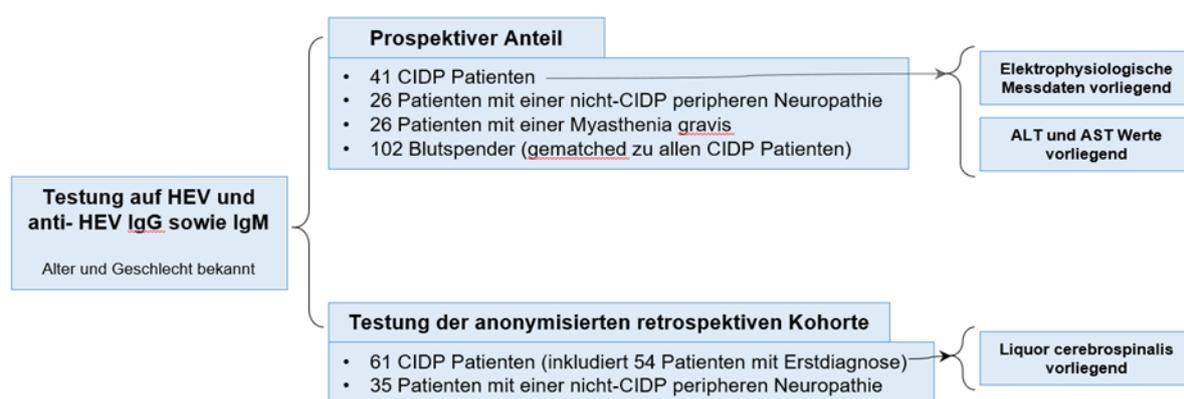


Abbildung 1: Studiendesign und Patientenrekrutierung. Prospektive Kohorte 195 Patienten; Retrospektive Kohorte: 96 Patienten

Patienten und Kontrollpersonen wurden in den ersten neun Monaten des Jahres 2021 prospektiv aus dem Raum Hamburg rekrutiert. Für diese Kohorte wurden alle erwachsenen Patienten der Ambulanz für periphere Nervenerkrankungen des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf zwischen Mai und September 2021

unselektiv zur Teilnahme eingeladen. Alle diese Patienten litten an chronischen Erkrankungen des peripheren Nervensystems/Polyneuropathien. 67 Personen (41 CIDP-Patienten und 26 Nicht-CIDP-Patienten mit peripherer Neuropathie) gaben eine schriftliche Einverständniserklärung ab und wurden in die Studie aufgenommen. Die Testung auf Anti-HEV-IgG und IgM erfolgte mittels Wantai-ELISA-Tests (Wantai, Peking, China). Zur Bestätigung der Anti-HEV-IgG-Positivität wurde ein Blot (Mikrogen Recomblot, Neuwied, Deutschland) gemäß den Anweisungen des Herstellers verwendet, wie zuvor beschrieben. Dieser kommerzielle Immunoblot bestätigte nicht nur den Anti-HEV-IgG-Serostatus, sondern klassifizierte auch die Antikörperantwort gemäß den HEV-Epitopen. Die PCR wurde mit einem kommerziellen Assay von Altona Diagnostics (Hamburg, Deutschland) durchgeführt.

Retrospektive Proben aus Hannover, die im letzten Jahrzehnt gesammelt wurden, wurden ebenfalls nach Anonymisierung analysiert. Zusätzlich wurden Plasmaproben von 26 Patienten mit Myasthenia gravis (MG) aus Hamburg sowie zusätzlich 102 alters- und geschlechtsabgestimmten Blutspendern aus Hamburg serologisch auf Anti-HEV-IgG und IgM sowie HEV mittels PCR getestet.

Aus organisatorischen Gründen wurden die 26 MG-Patienten nicht mit der Altona-Diagnostik-PCR, sondern mit der Roche Cobas TaqMan 6800 PCR (Roche, Hilden, Deutschland) getestet.

Um die Anti-HEV-IgG-Seroprävalenzrate in der prospektiven Kohorte von 41 CIDP-Patienten des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf zu validieren, wurde eine zweite Kohorte von 61 CIDP-Serumproben und 35 Patienten mit nicht-CIDP-bedingten neurologischen peripheren Erkrankungen von der Medizinischen Hochschule Hannover auf Anti-HEV-IgG und IgM sowie HEV mittels PCR getestet.

Alle CIDP-Patienten (n=102) wurden mit einer alters- und geschlechtsabgestimmten Kontrollgruppe von 102 Blutspendern verglichen, die zu Beginn des Jahres 2021 gesammelt wurden. Aufgrund der begrenzten Anzahl älterer Blutspender über 70 Jahren war eine exakte Anpassung nicht möglich, was zu unerheblichen Abweichungen führte.

Darüber hinaus wurden alle CIDP-Patienten auf Anti-CMV-IgG (ELISA Vidityst, MoBiTec, Göttingen, Deutschland) getestet. Um die Spezifität des Anti-HEV-IgG-ELISA (Wantai) in der Kohorte der CIDP-Patienten weiter zu charakterisieren, wurde die Anti-CMV-IgG-Seroprävalenz in dieser Gruppe mit der Anti-CMV-Seroprävalenz einer anderen Kohorte verglichen. Diese Kontrollgruppe für die Anti-CMV-IgG-Testung bestand aus 553 Patienten mit chronischen Leber- oder Nierenerkrankungen, die auf der Warteliste für die Leber- oder Nierentransplantation standen und keine vorherige IVIG-Behandlung erhalten hatten.

Um spezifische Risikofaktoren zu identifizieren, die signifikant mit einer früheren HEV-Exposition assoziiert sind, beantworteten 66 prospektiv untersuchte Patienten (40 CIDP, 26 Nicht-CIDP) einen Fragebogen (ergänzende Tabelle 1).

Diese Studie wurde von den lokalen Ethikkommissionen der Ärztekammer Hamburg und der Medizinischen Hochschule Hannover genehmigt (WF-138/20, 9741_BO_S_2021). Die Studie wurde gemäß den Empfehlungen der Deklaration von Helsinki durchgeführt.

Die statistische Analyse wurde wie folgt durchgeführt: Kontinuierliche Variablen mit einer nicht-normalverteilten Verteilung werden als Median und Interquartilbereich angegeben. Die Verteilung metrischer Parameter in verschiedenen Gruppen wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test verglichen. Kategoriale Variablen wurden als Zahlen (%) angegeben und mit dem exakten Fisher-Test verglichen. P-Werte unter 0,05 wurden als statistisch signifikant angesehen. Die statistischen Analysen wurden mit SPSS, Version 21.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA), durchgeführt.

Für die logistische Regression mit Anti-HEV-Status als Antwortvariable und Patientengruppe, Alter und Herkunftsstadt der Probe als unabhängigen Variablen verwendeten wir die R-Funktion glm (Version 4.2.3, R Foundation for Statistical Computing, Wien).

3. Ergebnisse

Als entscheidenden Hauptbefund konnten wir feststellen, dass signifikant mehr Patienten mit CIDP positiv auf Anti-HEV-IgG getestet wurden (64%, 65/102) als alters- und geschlechtsangepasste Blutspender (28%, 29/102), Patienten mit nicht-CIDP peripherer Neuropathie (20%, 12/61) oder MG-Patienten (12%, 3/26) (jeweils $p=0,002$; Abb. 2). Keiner dieser Patienten wurde mittels PCR positiv auf HEV-RNA getestet.

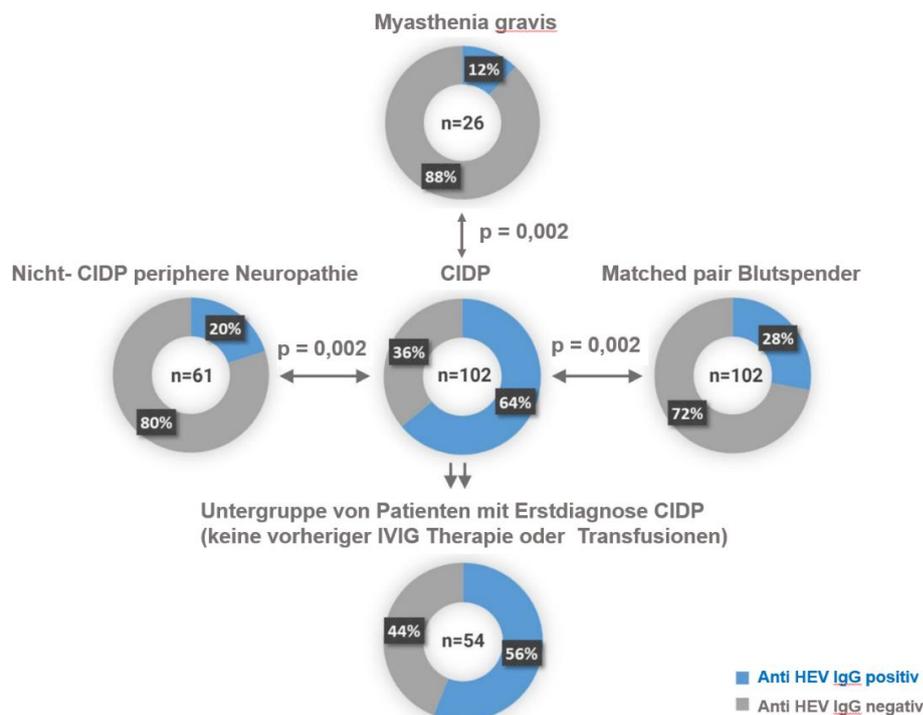


Abbildung 2: Anti-HEV Prävalenz in unterschiedlichen Kohorten.

Im Detail litten 61 Patienten mit nicht-CIDP-Polyneuropathie an alkoholtoxischer oder diabetesbedingter Polyneuropathie (n=16), multifokaler motorischer Neuropathie (n=15), Kollagenose-assoziiierter Neuropathie (n=7), paraneoplastischer Neuropathie (n=4) oder einer einzelnen seltenen Erkrankung (n=19). Die Seroprävalenz bei Patienten mit nicht-CIDP-Polyneuropathie (20%) unterschied sich nicht signifikant von der bei MG-Patienten ($p=0,55$) oder Blutspendern ($p=0,27$). Darüber hinaus zeigte die

Seroprävalenz bei Blutspendern keinen signifikanten Unterschied zu der bei MG-Patienten ($p=0,13$).

Motorische und sensorische Nervenleitungsstudien ($n=41$) aus der prospektiven CIDP-Kohorte sowie die Epitope-Antikörperprofilierung mittels Blot ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen Anti-HEV-positiven und Anti-HEV-negativen Individuen (Tabelle 2). Leider standen diese Daten für die 61 retrospektiv und anonymisiert untersuchten CIDP-Patienten (Abb. 1) uns nicht zur Verfügung.

	Anti HEV IgG positiv (n=31)	Anti HEV IgG negativ (n=10)	p- Wert
Motorische Nerven			
Distale Latenz tibial (37/41)**, Mittelw. (Std. Abw.), ms	10.1 (20.7)	6.2 (1.6)	0.3
Distale Latenz peroneus (27/41)**, Mittelw. (Std. Abw.), ms	6.9 (3.9)	7.7 (4.8)	0.9
Distale Latenz ulnar 41/41)**, Mittelw. (Std. Abw.), ms	3.8 (1.7)	4.8 (3.0)	0.2
CMAP Amplitude tibial (37/41)**, Mittelw. (Std. Abw.), mV	2.7 (2.6)	1.9 (2.3)	0.6
CMAP Amplitude peroneus (26/41)**, Mittelw.(Std.Abw.), mV	1.8 (1.5)	2.1 (1.8)	0.8
CMAP Amplitude ulnar (41/41)**, Mittelw.(Std.Abw.), mV	5.5 (2.7)	5.6 (2.4)	0.9
Minimale F-Latenz tibial (17/41)**, Mittelw.(Std.Abw.), ms	62.9 (13.5)	64.2 (6.2)	0.8
Minimale F-Latenz peroneus (5/41)**, Mittelw.(Std.Abw.), ms	61.1 (10.1)	45.7 (40.0)	1.0
Minimale F-Latenz ulnar (30/41) **, Mittelw.(Std.Abw.), ms	34.1 (4.7)	33.3 (6.9)	0.9
Sensible Nerven			
NLG sural (17/41)**, Mittelw.(Std.Abw.) m/s	42.0 (5.3)	38.9 (6.6)	0.5
NLG ulnar (22/41)**, Mittelw.(Std.Abw.), m/s	46.8 (7.4)	37.8 (10.5)	0.1
Amplitude sural (17/41)**, Mittelw.(Std.Abw.), μ v	8.8.7 (7.1)	4.5 (2.4)	0.4
Amplitude ulnar (23/42)**, Mittelw.(Std.Abw.), μ v	8.3 (5.6)	7.2 (4.8)	0.7

Tabelle 2.: Nervenleitgeschwindigkeit bei 41 prospektiv untersuchten anti-HEV-IgG-positiven und -negativen CIDP-Patienten **Aus Datenschutzgründen standen diese Daten für die retrospektive Kohorte aus Hannover nicht zur Verfügung. **Aufgrund von Messschwierigkeiten und der retrospektiven Erhebung dieser Werte waren nicht alle Parameter für alle Probanden verfügbar.

Während die Gesamt-IgG-Spiegel bei allen Patienten mit Erkrankungen des peripheren Nervensystems im normalen Bereich lagen, waren die Gesamt-IgG-Spiegel bei 86 Anti-HEV-IgG-positiven Patienten mit peripheren Nervenerkrankungen (CIDP und nicht-CIDP) signifikant höher als bei den 76 Anti-HEV-IgG-negativen Patienten mit peripheren Nervenerkrankungen (CIDP und nicht-CIDP). Im Gegensatz dazu unterschieden sich weder der Gesamt-IgG-Spiegel noch das CIDP-typische Antikörpermuster signifikant in der prospektiv untersuchten Gruppe von 41 CIDP-Patienten in der vorliegenden Studie (Tabelle 1).

	IgG positive (n=31)	IgG negative (n=10)	p-Wert
Geschlecht	23 männlich (75%)	6 männlich (60%)	0,5
Alter (Jahre)	66	65	1,0
IgG gesamt (g/l)	7,69	6,53	0,2
ALT (U/ml)	27	24	0,7
GM1 IgG, IgM	3	1	1,0
GM2	0	0	1,0
GM3	0	0	1,0
GQ1b IgG	0	2	1,0
GD1b IgM	0	0	1,0

Tabelle 1: Merkmale der prospektiv untersuchten CIDP-Patienten (n=41)* **Aus Datenschutzgründen waren diese Daten für die retrospektive Kohorte aus Hannover nicht verfügbar.

Die CIDP-Kohorte bestand aus 41 prospektiv eingeschlossenen Patienten aus Hamburg und 61 retrospektiv untersuchten Patienten aus Hannover. Die Gruppe der 61 retrospektiven Patienten (75% männlich, im Alter von 32–81 Jahren, Durchschnittsalter von 61 Jahren) mit zuvor gelagerten und eingefrorenen Serumproben umfasste 54 Patienten mit einer Erstdiagnose von CIDP. Unter den Patienten, die nie eine IVIG-Therapie erhalten hatten, wurden 56% (30/54) positiv auf Anti-HEV-IgG getestet (Abb. 2). Diese Rate (56%) stellt eine signifikant erhöhte Seroprävalenz im Vergleich zur Blutspender-Kontrollgruppe (28%, $p=0,004$), zur Nicht-CIDP-Kohorte (20%, $p=0,002$) oder zu den MG-Patienten (12%, $p=0,002$) dar.

Mittels logistischer Regression fanden wir eine signifikant geringere Wahrscheinlichkeit, Anti-HEV-positiv in der gesunden Kontrollgruppe (OR=0,105, 95%-CI [0,041, 0,254], $p<0,001$) und in der Kontrollgruppe der Patienten mit nicht-CIDP-Polyneuropathie (OR=0,094, 95%-CI [0,033, 0,242], $p<0,001$) zu sein, verglichen mit der CIDP-Gruppe. Weder das Alter (OR=1,01, 95%-CI [0,989, 1,036], $p>0,05$) noch die Stadt, aus der das Virus stammte (OR=2,2, 95%-CI [0,932, 5,49], $p>0,05$), hatten einen statistisch signifikanten Einfluss auf den Anti-HEV-Status.

Weder das Alter noch die Zeit seit der Erstdiagnose unterschieden sich signifikant zwischen Anti-HEV-IgG-positiven und -negativen CIDP-Patienten (Abb. 3 und 4). Alle verfügbaren Serum- und Liquorproben (Abb. 1) wurden mittels PCR negativ getestet. Alle- bis auf einen Patienten- wurden negativ auf Anti-HEV-IgM getestet. Dieser Anti-HEV-IgM-positive Patient war eine 73-jährige Frau mit einer Erstdiagnose von CIDP. Sie hatte zuvor keine IVIG- oder andere Transfusionen erhalten. Neun Monate zuvor hatte die Patientin jedoch eine neurologische Erkrankung, die mit isolierten Radialnervenschäden assoziiert war, und zu diesem Zeitpunkt konnte die Diagnose CIDP nicht belastbar gestellt werden. Erfreulicherweise war eine Serumprobe aus dieser Episode neun Monate vor der Erstdiagnose von CIDP noch verfügbar, und zu diesem Zeitpunkt wurde die Patientin negativ auf endemisches HEV mittels PCR sowie auf Anti-HEV-IgM und Anti-HEV-IgG getestet. Leider war nicht genügend Material übrig, um die Blutprobe der Patientin aus diesem Zeitpunkt auf Ratten-HEV zu testen.

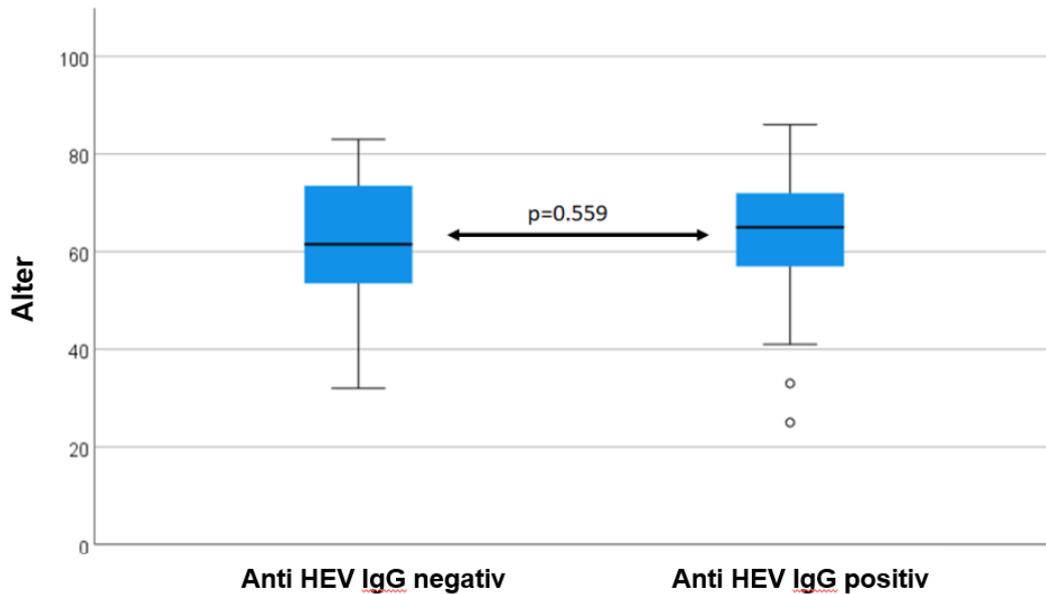


Abbildung 3: Das Alter unterschied sich nicht signifikant zwischen anti-HEV-IgG-positiven CIDP-Patienten und anti-HEV-IgG-negativen CIDP-Patienten (prospektive Kohorte und retrospektive Kohorte).

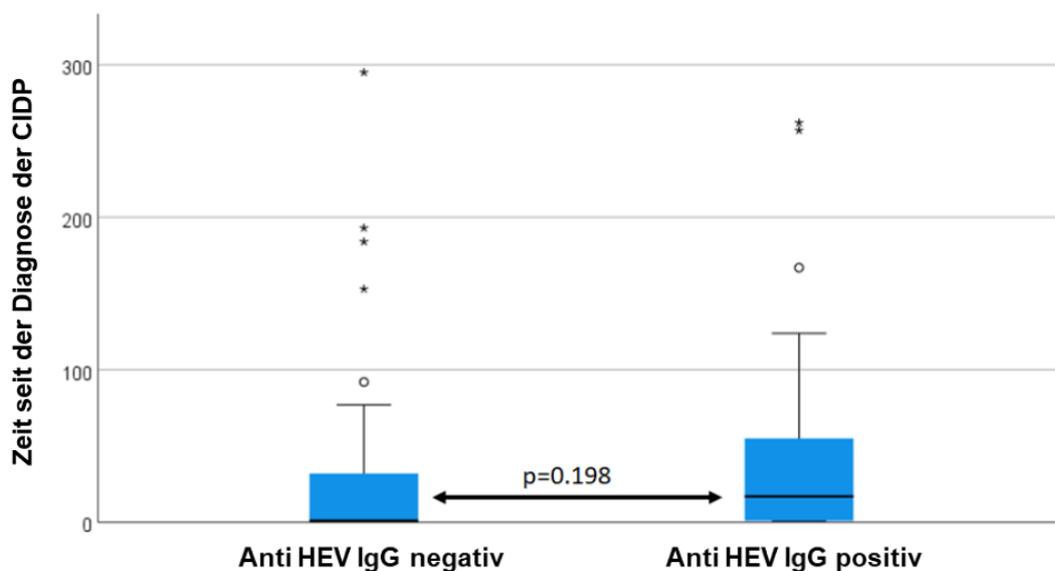


Abbildung 4: Die Zeit seit der Diagnose unterschied sich nicht signifikant zwischen anti-HEV-IgG-positiven und anti-HEV-IgG-negativen CIDP-Patienten (prospektive und retrospektive Kohorten zusammengefasst).

Weder neun Monate zuvor noch zum Zeitpunkt der Erstdiagnose wies die Patientin erhöhte AST- oder ALT-Werte auf. Keine weiteren Patienten, einschließlich derjenigen mit nicht-CIDP-Polyneuropathie und MG, wurden positiv auf Anti-HEV-IgM oder PCR getestet.

Um auszuschließen, dass die Anti-HEV-IgG-Seroprävalenz durch eine unspezifische Positivität aufgrund der IVIG-Verabreichung bedingt war, führten wir einen zusätzlichen Serologietest auf Anti-CMV-IgG durch. In der Gruppe der zuvor mit IVIG behandelten CIDP-Patienten waren 98% Anti-CMV-IgG-positiv (46/47). Von einem

Patienten lag uns für die Untersuchung nicht ausreichendes Material vor. Im Gegensatz dazu waren in der Gruppe der Patienten, die ursprünglich mit CIDP diagnostiziert wurden, ohne vorherige IVIG-Behandlung, signifikant weniger (50%) Anti-CMV-IgG-positiv (27/54, $p=0,002$). In einer Kontrollgruppe von 553 chronisch kranken Leber- oder Nierenpatienten (Patienten auf der Transplantations-Warteliste, ohne vorherige Exposition gegenüber IVIG) war eine vergleichbare Rate von 58% (323/553) Anti-CMV-IgG-positiv ($p=0,3$).

Wir validierten die relevanten positiven Anti-HEV-IgG-Tests (Wantai-Test) in der Hannoveraner CIDP-Untergruppe mit einer Erstdiagnose (keine vorherige IVIG-Exposition), indem wir verfügbare Serumproben von 31 CIDP-Patienten mittels Blot (Recomblot, Mikrogen, Neuried, Deutschland) testeten. Bei 30 dieser Patienten (97%) wurde die Anti-HEV-Positivität bestätigt. Im Gegensatz dazu wurde die Anti-HEV-IgG-Positivität durch den Blot nur bei zwei von vier (50%) Nicht-CIDP-Patienten aus der Hannoveraner Kohorte bestätigt (97% vs. 50%, $p=0,03$, Chi-Quadrat-Test).

Achtzehn der 30 bestätigten Anti-HEV-IgG-positiven (Wantai) CIDP-Patienten zeigten eine positive Linie (alle reaktiv gegen O2CGT3), zehn testeten positiv für zwei Linien (alle reaktiv gegen O2CGT3 und O2cGT1), ein Patient testete positiv für drei Linien (reaktiv gegen O2CGT3, O2CGT1 und O3GT1), und der letzte Patient hatte vier positive Linien (reaktiv gegen O2CGT3, O2CGT1, O3GT1 und O3GT3) (Tabelle 1).

Um erste Einblicke zu gewinnen, ob sich Anti-HEV-IgG-positive und Anti-HEV-IgG-negative Patienten hinsichtlich der klinischen Schwere oder der Symptome neurologischer Schäden unterscheiden, wurden neurophysiologische Messungen prospektiv bei Anti-HEV-IgG-positiven und Anti-HEV-IgG-negativen CIDP-Patienten ($n=41$) untersucht. Es wurden jedoch in dieser Pilotstudie keine signifikanten Unterschiede festgestellt (Tabelle 2).

Mittels eines Fragebogens wurden 66 Patienten mit peripheren Neuropathien befragt, um Risikofaktoren für den Kontakt mit HEV und damit für die Anti-HEV-IgG-Seropositivität zu identifizieren. Die Kohorte umfasste 40 Patienten mit CIDP (61%) und 26 mit nicht-CIDP (39%), von denen 38 positiv auf Anti-HEV-IgG (58%) und 28 negativ (42%) getestet wurden. Die Befragung umfasste Ernährung, Beruf, Hobbys, sexuelle Orientierung, Anzahl der Transfusionen und Anzahl der Haustiere (Tabelle 3). Der Chi-Quadrat-p-Wert erreichte für keinen dieser Parameter statistische Signifikanz. Insbesondere der Konsum von Schweinefleisch unterschied sich nicht signifikant zwischen Anti-HEV-IgG-positiven und Anti-HEV-IgG-negativen Personen ($p=0,651$).

Faktor	CIDP, anti-HEV IgG positiv (n=30)	CIDP, anti-HEV IgG negativ (n=10)	Nicht-CIDP, anti-HEV IgG positiv (n=8)	Nicht-CIDP, anti-HEV IgG negativ (n=18)
Männlich	21 (70%)	6 (60%)	8 (100%)	13 (72%)
In Deutschland geboren	28 (93%)	6 (60%)	6 (75%)	12 (67%)
Reisen außerhalb Europas in den letzten 5 Jahren	9 (30%)	5 (50%)	2 (25%)	8 (44%)
Frühere Transfusionen	9 (30%)	3 (30%)	1 (13%)	4 (22%)
	28 (93%)	8 (80%)	6 (75%)	15 (83%)

Schweinefleischkonsum				
Konsum von rohem Schweinefleisch	12 (40%)	2 (20%)	1 (13%)	4 (22%)
Wildfleischkonsum	20 (67%)	7 (70%)	6 (75%)	13 (72%)
Muschelkonsum	17 (57%)	9 (90%)	6 (75%)	9 (50%)
Konsum von rohem Rindfleisch	12 (40%)	3 (30%)	5 (63%)	8 (44%)
Pferdefleischkonsum	5 (17%)	1 (10%)	3 (38%)	2 (11%)
Schaffleischkonsum	17 (57%)	7 (70%)	6 (75%)	8 (44%)
Konsum von rohem Fisch	8 (27%)	6 (60%)	6 (75%)	6 (33%)
Ein Haustier haben	8 (27%)	5 (50%)	1 (13%)	5 (28%)
Kinder haben	22 (73%)	8 (80%)	7 (88%)	10 (56%)
Arbeit mit Schweinen	3 (10%)	1 (10%)	0 (0%)	4 (22%)
Arbeit im Gesundheitswesen	4 (13%)	1 (10%)	2 (25%)	4 (22%)
Hobby: Reiten	0 (0%)	0 (0%)	1 (13%)	4 (22%)
Hobby: Angeln	2 (7%)	1 (10%)	1 (13%)	6 (33%)

Tabelle 3: Verteilung verschiedener möglicher HEV-Expositionsfaktoren (basierend auf einem Fragebogen)

4. Diskussion

Mehrere Studien haben einen Zusammenhang zwischen einer HEV-Infektion und neurologischen Erkrankungen wie NA oder GBS aufgezeigt [1]. Unsere Studie zeigt nun eindeutig, dass Patienten mit CIDP, einer weiteren seltenen entzündlichen Erkrankung des peripheren Nervensystems, eine signifikant erhöhte Anti-HEV-IgG-Seroprävalenz (65%) aufweisen.

Eine kürzlich veröffentlichte italienische Studie an 82 CIDP-Patienten fand ebenfalls eine signifikant erhöhte Anti-HEV-Seroprävalenz; ähnlich unseren Ergebnissen [19]. Im Gegensatz zu unserer Studie konnten die italienischen Forscher jedoch IVIG-Produkte und transfundierte Anti-HEV-Antikörper als mögliche Erklärungen für diese Beobachtung nicht ausschließen und interpretierten dies folglich als wahrscheinlichste Ursache. CIDP-Patienten werden in der Regel mit IVIG, Plasmapherese und Immunsuppression in verschiedenen Kombinationen behandelt, von denen bekannt ist, dass sie die Anti-HEV-IgG-Seroprävalenz beeinflussen [21-23].

In der vorliegenden Studie wurde eine detaillierte Untersuchung einer Untergruppe von Patienten mit einer Erstdiagnose von CIDP (n=54) durchgeführt, um den Einfluss eben dieser Faktoren auszuschließen. Diese Analyse ergab eine signifikant höhere Rate der Anti-HEV-IgG-Positivität (56%) in dieser Kohorte, die niemals IVIG erhalten hatte. Bei fast 100% dieser Patienten wurde die IgG-Positivität durch einen Blot-Test bestätigt. Daher ist eine frühere Exposition gegenüber HEV, und nicht IVIG-vermittelte Anti-HEV-IgG-Antikörper, tatsächlich die Ursache für die erhöhte Anti-HEV-Seropositivität bei CIDP-Patienten.

Obwohl die Gesamt-IgG-Spiegel (Invitrogen) in der CIDP-Kohorte im Normalbereich lagen, war Anti-CMV-IgG auffällig erhöht, was die Wahrscheinlichkeit unspezifischer falsch-positiver serologischer Ergebnisse bei zuvor mit IVIG behandelten CIDP-Patienten nahelegt. Insbesondere waren 98% der 47 zuvor mit IVIG behandelten Patienten positiv für Anti-CMV-IgG, während nur 50% (27/54) der unbehandelten Kohorte positiv für Anti-CMV getestet wurden.

Diese Seroprävalenz (50%) war geringfügig niedriger als die 58% Anti-CMV-IgG-Seroprävalenz, die bei Kontrollpersonen mit chronischer Nieren- oder Lebererkrankung (323/553) beobachtet wurden. Daher sind unspezifische serologische Befunde bei unbehandelten CIDP-Patienten am ehesten nicht von klinisch- prognostischer Bedeutung.

Eine nicht abschließend zu klärende Beobachtung in unserer Studie war, dass die Gesamt-IgG-Serumspiegel bei CIDP-Patienten, die positiv auf Anti-HEV getestet wurden, höher waren als bei denen, die negativ getestet wurden, obwohl alle IgG-Werte im normalen Bereich lagen. Diese Beobachtung blieb von uns nicht sicher einordbar. Es ist spekulativ, ob eine einzelne frühere Anti-HEV-IgG-positive IVIG-Infusion dieses Phänomen beeinflusst hat oder ob die Immunsysteme von Patienten mit früherer HEV-Exposition etwas stärker stimuliert waren und dazu neigten, mehr Antikörper zu produzieren. Zukünftige Studien, die die Rolle der Anti-HEV-Avidität und der HEV-spezifischen T-Zell-Antwort bei Anti-HEV-positiven im Vergleich zu negativen CIDP-Patienten untersuchen, könnten weitere Einblicke liefern.

Derzeit ist nicht bekannt, wie viele der Anti-HEV-IgG-positiven CIDP-Fälle mit einer früheren HEV-Exposition in Verbindung gebracht werden können, da falsch-positive Ergebnisse nicht vollständig ausgeschlossen werden können. Die Rate der Anti-HEV-IgG-Positivität in der gesamten Kohorte der CIDP-Patienten (65%) und in der Untergruppe der unbehandelten CIDP-Patienten, die niemals IVIG erhalten haben, unterscheidet sich nicht signifikant, ist aber im Vergleich zu unseren Kontrollgruppen und der zuvor berichteten Seroprävalenz von 17% in der erwachsenen Bevölkerung in Deutschland erheblich erhöht [24, 25]. Daher kommen wir zu dem Schluss, dass eine frühere IVIG-Therapie die erhöhte Anti-HEV-IgG-Seroprävalenz bei CIDP-Patienten nicht erklärt. Es bleibt jedoch unklar, inwieweit, falls überhaupt, IVIG zu positiven Anti-HEV-IgG-Testergebnissen bei einzelnen Patienten ohne frühere HEV-Exposition geführt hat.

Darüber hinaus sind nicht alle Antikörper gegen andere Viren bei CIDP-Patienten mit vorheriger IVIG-Therapie generell erhöht, da die Anti-CMV-Seroprävalenz nicht erhöht war. Bemerkenswert ist, dass eine frühere Studie bei Patienten mit variabler Immundefizienz (CVID), die IVIG erhielten, zeigte, dass die Anti-HEV-OD-Werte nach IVIG-Infusion anstiegen, jedoch nicht den positiven cutt-off erreichten [26]. Zudem wurden während der COVID-19-Pandemie Anti-SARS-CoV-2-IgG in mehreren IVIG-Präparaten gefunden, aber die Anti-SARS-CoV-2-IgG-Serumspiegel bei Empfängern dieser IVIGs wurden nach der Infusion nicht signifikant verändert [26]. Aufgrund dieser Überlegungen ist es fraglich, ob konventionelle IVIG-Transfusionen die Seroprävalenz eines einzelnen Erregers, einschließlich HEV, in einer bedeutenden Anzahl von Patientengruppen signifikant beeinflussen können.

Um sicherzustellen, dass die erhöhte Anti-HEV-Seroprävalenz unter CIDP-Patienten nicht auf Hamburg beschränkt ist, haben wir eine zweite Kohorte von CIDP-Patienten

aus Hannover analysiert (Fig. 1). Durch die Verwendung von zwei getrennten Kohorten aus Zentren in Norddeutschland, die 160 km voneinander entfernt sind, konnten wir bestätigen, dass CIDP-Patienten eine signifikant höhere Anti-HEV-IgG-Seroprävalenz aufweisen.

Zukünftige Studien sollten größere, multizentrische Kohorten untersuchen und sowohl die Serologie als auch die HEV-spezifischen T-Zell-Antworten vom Beginn der CIDP an longitudinal testen, um weitere Einblicke in die Dynamik der Erkrankung zu gewinnen.

Bemerkenswert ist, dass in der aktuellen Studie ein CIDP-Patient positiv auf Anti-HEV-IgM getestet wurde, was auf einen potenziellen Zusammenhang zwischen HEV-Exposition und der Entwicklung von CIDP hinweist. Obwohl dieser einzelne Fall nicht überinterpretiert werden sollte, könnte er eine plausible Abfolge von Ereignissen veranschaulichen: eine initiale HEV-Exposition, die zu milden neurologischen Symptomen, Serokonversion und anschließendem Auftreten von CIDP führt. Dies könnte näherungsweise den Zusammenhang und Ablauf zwischen HEV-Infektionen und neurologischen Erkrankungen beschreiben. Anfangs wurde angenommen, dass neurologische Störungen durch die Virusreplikation in Nervenzellen verursacht werden könnten. CIDP, das bekanntlich als autoimmun-entzündlich bedingt beschrieben wird, stellt diese Sichtweise jedoch in Frage. Traditionell wurde angenommen, dass Autoimmunität primär auf Myelinscheiden abzielt, aber unsere Ergebnisse legen nahe, dass HEVs eine direkte Rolle spielen könnten, indem sie möglicherweise fehlgeleitete Immunantworten auslösen. Diese Studie ist auch relevant für das Verständnis von Myasthenia gravis (MG). Während eine frühere chinesische Studie HEV-Genotyp 4 mit MG in Verbindung brachte, fanden wir in unserer europäischen Studie keine derartige Assoziation mit HEV-Genotyp 3, der in unserer Region vorherrscht. Dennoch kann unsere Kohorte von 26 MG-Patienten eine Assoziation nicht definitiv ausschließen, weshalb größere Studien zur Validierung erforderlich sind.

Zusammenfassend zeigt unsere Studie eindeutig einen Zusammenhang zwischen HEV-Exposition und CIDP, einer seltenen immunvermittelten neurologischen Erkrankung. Wir bestätigen frühere Erkenntnisse und zeigen, dass erhöhte Anti-HEV-IgG-Spiegel bei CIDP-Patienten nicht mit einer IVIG-Behandlung in Verbindung stehen. Unsere Studie hat jedoch Einschränkungen, die zukünftige Forschung initiieren sollte: Unsere Kohorte von 102 CIDP-Patienten, ob der Tatsache einer beträchtlichen Zahl für diese Erkrankung, erfordert größere multizentrische Studien zur Validierung. Darüber hinaus sollten zukünftige Untersuchungen die immunologischen Befunde im Detail erforschen (z.B. Analyse der HEV-spezifischen T- und B-Zell-Antworten, Antikörperfeinspezifität, Affinitäten und Kreuzreaktivität oder der T- und B-Zell-Repertoires), da die Ergebnisse der aktuellen Studie ausschließlich auf serologischen Befunden basieren.

Weitere Untergruppenanalysen identifizierten keine spezifischen klinischen oder serologischen Merkmale, die für CIDP-Patienten mit früher HEV-Exposition einzigartig wären, was auf einen Bedarf an größeren und vielfältigeren Kohorten einschließlich geeigneter Kontrollen hinweist. Darüber hinaus wird die Erweiterung der Forschung auf andere neurologische Erkrankungen, einschließlich solcher, die mit IVIG behandelt werden, dazu beitragen, zu klären, ob frühere HEV-Exposition spezifisch für CIDP ist oder bei verschiedenen Erkrankungen verbreitet ist.

5. Abbildungen und Tabellen

Abbildung 1: Studiendesign und Patientenrekrutierung: 195 prospektiv und 96 retrospektiv untersuchte Patienten

Abbildung 2: Anti-HEV-Seroprävalenz in verschiedenen Kohorten.

Abbildung 3: Das Alter unterschied sich nicht signifikant zwischen anti-HEV-IgG-positiven CIDP-Patienten und anti-HEV-IgG-negativen CIDP-Patienten (prospektive Kohorte und retrospektive Kohorte).

Abbildung 4: Die Zeit seit der Diagnose unterschied sich nicht signifikant zwischen anti-HEV-IgG-positiven und anti-HEV-IgG-negativen CIDP-Patienten (prospektive und retrospektive Kohorten zusammengefasst).

Tabelle 1: Merkmale der prospektiv untersuchten CIDP-Patienten (n=41).

Tabelle 2: Nervenleitgeschwindigkeit bei 41 prospektiv untersuchten anti-HEV-IgG-positiven und -negativen CIDP-Patienten.

Tabelle 3: Verteilung verschiedener möglicher HEV-Expositionsfaktoren (basierend auf einem Fragebogen)

6. Abkürzungsverzeichnis

HEV -	Hepatitis-E-Virus
CIDP -	Chronisch Entzündliche Demyelinisierende Polyneuropathie
MG -	Myasthenia Gravis
IVIG -	Intravenöses Immunglobulin
CSF -	Liquor cerebrospinalis (Zerebrospinalflüssigkeit)
GBS -	Guillain-Barré-Syndrom
NA -	Neuralgische Amyotrophie
PCR -	Polymerase-Kettenreaktion
ELISA -	Enzymgekoppelter Immunadsorptionstest
CMV -	Zytomegalievirus
DZIF -	Deutsches Zentrum für Infektionsforschung
BMBF -	Bundesministerium für Bildung und Forschung
HBRS -	Hannover Biomedical Research School
SPSS -	Statistisches Analyseprogramm (Statistical Package for the Social Sciences)
NLG -	Nervenleitgeschwindigkeit
CMAP -	Compound muscle action potential (deutsch: Summenaktionspotenzial)

7. Zusammenfassung in deutscher Sprache

Das Guillain-Barré-Syndrom und die neuralgische Amyotrophie sind bereits mit Infektionen durch den Hepatitis-E-Virus (HEV) Genotyp 3 in Zusammenhang gebracht worden, während die Myasthenia gravis (MG) mit Infektionen durch den HEV-Genotyp 4 assoziiert ist. Diese Assoziationen legen nahe, dass verschiedene neurologische Erkrankungen durch spezifische Genotypen des HEV hervorgerufen werden könnten. Allerdings ist bislang unklar, ob auch die chronisch entzündliche demyelinisierende Polyneuropathie (CIDP) eine Folge von HEV-Infektionen sein könnte. Diese Fragestellung ist von großer Bedeutung, da CIDP eine schwerwiegende, oft chronisch verlaufende Erkrankung des peripheren Nervensystems ist, deren Ätiologie in vielen Fällen unklar bleibt.

In der vorliegenden Studie wurden insgesamt 102 Patienten mit CIDP, 102 alters- und geschlechtsabgestimmte Blutspender als Kontrollgruppe, 61 Patienten mit anderen Formen der peripheren Neuropathie (ohne CIDP) sowie 26 Patienten mit Myasthenia gravis (MG) auf das Vorhandensein von HEV und den Antikörpern Anti-HEV-IgM und Anti-HEV-IgG getestet. Die Ergebnisse zeigten, dass 65 der 102 (64 %) CIDP-Patienten positiv auf Anti-HEV-IgG reagierten, wogegen lediglich ein Patient (1 %) positiv auf Anti-HEV-IgM war. Zudem zeigte kein anderer Patient, weder in der Gruppe der Blutspender noch in den Gruppen der peripheren Neuropathie oder MG, eine positive Reaktion auf Anti-HEV-IgM.

Ein besonderes Augenmerk wurde auf die CIDP-Patienten mit Erstdiagnose gelegt, die noch keine intravenöse Immunglobulin-Therapie (IVIg) erhalten hatten. In dieser Untergruppe präsentierten sich 30 von 54 (56 %) Patienten positiv auf Anti-HEV-IgG. Im Vergleich dazu waren die Anti-HEV-Raten in den Kontrollgruppen signifikant niedriger: nur 28 % der Blutspender, 20 % der Patienten mit nicht-CIDP peripherer Neuropathie und lediglich 12 % der MG-Patienten zeigten eine positive Reaktion auf Anti-HEV-IgG.

Bei keinem der untersuchten Probanden wurde eine HEV-Virämie festgestellt, und auch die Analyse des Liquors bei 61 CIDP-Patienten (davon 54 mit Erstdiagnose) ergab keine Hinweise auf HEV-Positivität. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Entwicklung von CIDP möglicherweise durch eine Exposition gegenüber dem HEV, insbesondere dem Genotyp 3, in Regionen, in denen dieser Genotyp endemisch ist, ausgelöst werden könnte. Dabei scheint die erhöhte Seroprävalenz von Anti-HEV bei CIDP-Patienten nicht auf die vorherige IVIg-Therapie zurückzuführen zu sein, sondern könnte vielmehr auf eine direkte autoimmune Reaktivität der HEV-Infektion hindeuten.

Insgesamt unterstreichen diese Ergebnisse die Notwendigkeit weiterer Forschung, um den potenziellen Zusammenhang zwischen HEV-Infektionen und der Entwicklung von CIDP besser zu verstehen und möglicherweise neue therapeutische Ansätze zu identifizieren.

8. Zusammenfassung in englischer Sprache

Guillain–Barré syndrome and neuralgic amyotrophy have been associated with hepatitis E virus (HEV) genotype 3 infections, while myasthenia gravis (MG) has been associated with HEV genotype 4 infections. However, whether chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP) is associated with HEV infections has not been conclusively clarified yet.

102 CIDP patients, 102 age and sex-matched blood donors, 61 peripheral neuropathy patients (non-CIDP patients), and 26 MG patients were tested for HEV and anti-HEV IgM and IgG. Sixty-five of the 102 (64%) CIDP patients tested positive for anti-HEV IgG and one (1%) for anti-HEV IgM. No other patient tested positive for anti-HEV IgM.

In the subgroup of CIDP patients with initial diagnosis (without previous IVIG treatment), 30/54 (56%) tested positive for anti-HEV IgG. Anti-HEV rates were significantly lower in blood donors (28%), non-CIDP peripheral neuropathy patients (20%), and MG patients (12%). No subject tested positive for HEV viremia. CSF tested negative in 61 CIDP patients (54 patients with primary diagnosis).

The development of CIDP but not non-CIDP polyneuropathy may be triggered by HEV exposure in an HEV genotype 3 endemic region. The increased anti-HEV seroprevalence in CIDP patients is not a consequence of IVIG therapy.

9. Literaturverzeichnis

1. **Pischke S**, Hartl J, Pas SD, Lohse AW, Jacobs BC, Van der Eijk AA. Hepatitis E virus: Infection beyond the liver? *J Hepatol* 2017; 66(5): 1082-95.
2. **Drave SA**, Debing Y, Walter S, et al. Extra-hepatic replication and infection of hepatitis E virus in neuronal-derived cells. *J Viral Hepat* 2016; 23(7): 512-21.
3. **Abravanel F**, Nicot F, Lhomme S, et al. Hepatitis E Virus Quasispecies in Cerebrospinal Fluid with Neurological Manifestations. *Vaccines (Basel)* 2021; 9(10).
4. **Fritz M, Berger B**, Schemmerer M, et al. Pathological Cerebrospinal Fluid Findings in Patients With Neuralgic Amyotrophy and Acute Hepatitis E Virus Infection. *J Infect Dis* 2018; 217(12): 1897-901.
5. **Fritz-Weltin M**, Isenmann N, Frommherz E, et al. Acute CNS infections - Expanding the spectrum of neurological manifestations of hepatitis E virus? *J Neurol Sci* 2021; 423: 117387.
6. **Kamar N**, Bendall RP, Peron JM, et al. Hepatitis E virus and neurologic disorders. *Emerg Infect Dis* 2011; 17(2): 173-9.
7. **van Eijk JJ, Madden RG**, van der Eijk AA, et al. Neuralgic amyotrophy and hepatitis E virus infection. *Neurology* 2014; 82(6): 498-503.
8. **van Eijk JJJ, Dalton HR**, Ripellino P, et al. Clinical phenotype and outcome of hepatitis E virus-associated neuralgic amyotrophy. *Neurology* 2017; 89(9): 909-17.
9. **Bannasch JH, Berger B**, Schwartkop CP, et al. HEV-Associated Neuralgic Amyotrophy: A Multicentric Case Series. *Pathogens* 2021; 10(6).
10. **van den Berg B, van der Eijk AA**, Pas SD, et al. Guillain-Barre syndrome associated with preceding hepatitis E virus infection. *Neurology* 2014; 82(6): 491-7.
11. **den Drijver EPM**, Brouwer AE, Synhaeve NE, et al. Evidence for Independent Hepatitis E Virus Replication in the Brain. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2021; 8(2).
12. **Lhomme S**, Fayard A, Mirafzal S, et al. Persistence of hepatitis E virus in the cerebrospinal fluid despite apparently successful ribavirin therapy. *J Antimicrob Chemother* 2022; 77(8): 2300-3.
13. **Gilhus NE**, Verschuuren JJ. Myasthenia gravis: subgroup classification and therapeutic strategies. *Lancet Neurol* 2015; 14(10): 1023-36.
14. **Belbezier A**, Deroux A, Sarrot-Reynauld F, Larrat S, Bouillet L. Myasthenia gravis associated with acute hepatitis E infection in immunocompetent woman. *Emerg Infect Dis* 2014; 20(5): 908-10.
15. **Wang L, Gao F**, Lin G, et al. Association of hepatitis E virus infection and myasthenia gravis: A pilot study. *J Hepatol* 2018; 68(6): 1318-20.

16. **Querol L**, Crabtree M, Herepath M, et al. Systematic literature review of burden of illness in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP). *J Neurol* 2021; 268(10): 3706-16.
17. **Kuwabara S**, Misawa S. Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy. *Adv Exp Med Biol* 2019; 1190: 333-43.
18. **Wiesenfarth M**, Stamminger T, Zizer E, Tumani H, Ludolph AC. Neurological manifestation of HEV infection: still a rare disease entity? *J Neurol* 2023.
19. **Moret F**, Spada E, Ceccanti M, et al. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy and HEV antibody status: A case-control study from Lazio, Italy. *J Neurol Sci* 2024; 459: 122959.
20. **Kraef C**, Schlein C, Hiller J, et al. Course of HEV viremia and anti-HEV IgM/IgG response in asymptomatic blood donors. *J Clin Virol* 2018; 105: 26-30.
21. **Pischke S**, Horn-Wichmann R, Ernst D, et al. Absence of chronic hepatitis E in a German cohort of common variable immunodeficiency patients. *Infect Dis Rep* 2012; 4(2): e28.
22. **Mallet V**, Sberro-Soussan R, Roque-Afonso AM, et al. Transmission of Hepatitis E Virus With Plasma Exchange in Kidney Transplant Recipients: A Retrospective Cohort Study. *Transplantation* 2018; 102(8): 1351-7.
23. **Ma Z, de Man RA**, Kamar N, Pan Q. Chronic hepatitis E: Advancing research and patient care. *J Hepatol* 2022; 77(4): 1109-23.
24. **Faber MS**, Wenzel JJ, Jilg W, Thamm M, Hohle M, Stark K. Hepatitis E virus seroprevalence among adults, Germany. *Emerg Infect Dis* 2012; 18(10): 1654-7.
25. **Svacina MKR**, Meissner A, Schweitzer F, et al. Antibody response after COVID-19 vaccination in intravenous immunoglobulin-treated immune neuropathies. *Eur J Neurol* 2022; 29(11): 3380-8.

10. Erklärung des Eigenanteils an der Publikation

Die Arbeit wurde in Kooperation zwischen Ambulanzzentrum und der 1. Medizinischen Klinik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf unter Betreuung von Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Sven Pischke durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Pischke und Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Mathias Gelderblom

Die Datenerhebung erfolgte mit Unterstützung der Mitarbeiter des Ambulanzentrums durch mich.

Die statistische Auswertung wurde durch Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Pischke und mich durchgeführt.

Die Verfassung der Publikationsschrift erfolgte durch Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Pischke, mich sowie durch Unterstützung und Korrektur der weiteren Co-Autoren.

11. Danksagung

Mit der Vollendung dieser Dissertation möchte ich die Gelegenheit nutzen, meinen aufrichtigen Dank an all diejenigen auszusprechen, die mich auf diesem Weg unterstützt haben.

Zunächst gilt mein besonderer Dank meinen Betreuern, Herrn Priv. Doz. Dr. med. Sven Pischke und Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Mathias Gelderblom, für die wertvolle Anleitung, deren kontinuierliches Vertrauen und konstruktiven Anregungen, die maßgeblich zur erfolgreichen Durchführung dieser Promotionsarbeit beigetragen haben. Zudem haben Svens Geduld und sein Engagement mich nicht nur bei dieser wissenschaftlichen Arbeit vorangebracht, sondern mich auch empathisch in allen Belangen durch die Zeit begleitet.

Mein Dank gilt auch den Kolleginnen und Kollegen in der Arbeitsgruppe, die stets ein offenes Ohr hatten und durch ihre kritischen Diskussionen und ihre Unterstützung zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben- stellvertretend möchte ich hier Frau M. Mader erwähnen.

Besonders danke ich meinen großartigen Eltern, die mir so vieles im Leben ermöglicht haben. Ihr Mut und ihre Liebe haben mir nicht zuletzt bei diesem Vorhaben neue Wege eröffnet. Ihre Ermutigung und die Werte, die Sie mir vermittelt haben, waren die Grundlage für meinen akademischem Erfolg.

Abschließend gebührt meiner Lebensgefährtin ein besonderer Dank. Deren unerschütterliche Unterstützung und Liebe mir während der gesamten Zeit eine Stütze waren. Ohne Ihre kontinuierliche Unterstützung und Ihr Vertrauen in mich wäre diese Dissertation nicht möglich gewesen.

Allen, die ich vielleicht nicht namentlich erwähnt habe, gilt mein herzlicher Dank.

12. Lebenslauf

Lebenslauf entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen.

13. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe, insbesondere ohne entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten, verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe. Das gilt insbesondere auch für alle Informationen aus Internetquellen. Soweit beim Verfassen der Dissertation KI-basierte Tools („Chatbots“) verwendet wurden, versichere ich ausdrücklich, den daraus generierten Anteil deutlich kenntlich gemacht zu haben. Die „Stellungnahme des Präsidiums der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) zum Einfluss generativer Modelle für die Text- und Bilderstellung auf die Wissenschaften und das Förderhandeln der DFG“ aus September 2023 wurde dabei beachtet. Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe. Ich erkläre mich damit einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: