

Aus der Klinik und Poliklinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie
der Universitätsmedizin der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

Relevanz von CMV-Infektionen nach Lebertransplantation. Kann ein CMV
spezifischer ELISPOT zur Risikoeinschätzung beitragen?

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin oder Zahnmedizin oder der physiologischen Wissenschaften
der Universitätsmedizin
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Constantin Scholz
aus Freiburg im Breisgau

Mainz, 2023

Tag der Promotion: 24.10.2023

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
Abbildungsverzeichnis	6
Tabellenverzeichnis	8
1. Einleitung	10
1.1 Epidemiologie.....	11
1.2 Grundlagen der Immunologie.....	11
1.2.1. Angeborene Immunantwort	11
1.2.2. Adaptive Immunantwort.....	12
1.2.3. T-Lymphozyten.....	12
1.2.4 Zelluläre Immunantwort	12
1.2.5 B-Lymphozyten	13
1.2.6 Antivirale Immunreaktion	13
1.3. CMV-Taxonomie und Morphologie	14
1.4. Replikationszyklus.....	15
1.5 Primärinfektion und Latenzbildung	16
1.6. Pathomechanismus der CMV- Reaktivierung.....	17
1.7 Definition der Erkrankung und Symptomatik.....	18
1.8 Late Onset CMV-Infektion	19
1.9. Direkte und indirekte Effekte einer CMV-Erkrankung	19
1.10. Die Leber als immunologisches Organ – eine Sonderstellung.....	21
1.11. Immunsuppression.....	22
1.11.1 Steroide.....	22
1.11.2 Calcineurin-Inhibitoren (Tacrolimus, Cyclosporin A)	23
1.11.3 mTOR-Inhibitoren (Everolimus).....	24
1.11.4 Mycophenolat-Mofetil (MMF)	24
1.12. Antivirale Therapie.....	25
1.12.1 Ganciclovir und Valganciclovir.....	25
1.13. Prophylaxe vs. Präemptive Strategie	26
1.14. Ziel dieser Arbeit	27
2. Methoden	28
2.1. Datenerhebung.....	28
2.2. Statistische Analyse	29
2.3. Definitionen:	30
2.4. Patientenkollektiv.....	31
2.5 CMV-Antikörper Status.....	31
2.6. ELISpot.....	32
2.6.1 Verfahrensprinzip	32
2.6.2. Versuchsdurchführung	33
2.6.3 Versuchsauswertung.....	35
2.6.4 Materialliste	36
3. Resultate	37

3.1. Patientenkollektiv.....	37
3.1.1. Mortalitätsanalyse	38
3.1.2. Indikation	39
3.1.3. Indikation zur Re-Lebertransplantation	40
3.1.4. CMV-Risikokonstellationen.....	40
3.1.5. CMV-Risiko und Prophylaxe	41
3.1.6 Immunsuppression	42
3.2. CMV-Infektionen.....	43
3.2.1 Positiver Virusnachweis innerhalb des ersten Jahres nach LTX	43
3.2.2. CMV- Infektionen im zeitlichen Verlauf	44
3.2.3. CMV-Reaktivierung/ Neuinfektion und Risikogruppen:.....	45
3.2.4. CMV und Überleben	46
3.2.5. CMV und Krankenhausverweildauer	47
3.2.6. CMV und Alter	48
3.2.7. CMV und Immunsuppression	49
3.2.8. labMELD und CMV-Infektionen	51
3.3. ELISpot Daten.....	54
3.3.1. ELISpot Response.....	55
3.3.2. ELISpots im zeitlichen Verlauf	56
3.3.3 Kasuistik: Spotanzahl und CMV-Infektionen.....	60
3.3.4. Präoperative Spotanzahl und Häufigkeit von CMV-Infektionen	64
3.3.5. labMELD und Spotanzahl präoperativ	66
3.3.6. Immunsuppression (Tacrolimus) und ELISpots.....	67
3.3.7. Tacrolimus-Dosis und Tacrolimus-Spiegel im zeitlichen Verlauf	70
4. Diskussion.....	71
4.1. Klinische Relevanz von Cytomegalievirus-Infektionen.....	71
4.1.1 CMV und Mortalität/Morbidität	72
4.1.2 Immunsuppression und CMV-Infektionen.....	73
4.1.3.Evidenzlage zur CMV-Prophylaxe	74
4.1.4. CMV-Risikogruppen im eigenen Patienten Kollektiv	75
4.2 MELD-Score als Werkzeug zur Risikostratifizierung?	77
4.3. ELISpots.....	78
4.3.1 ELISpots präoperativ, nach 3,6 und 12 Monaten.....	78
4.3.2 Spots im zeitlichen Verlauf nach CMV-Infektion	80
4.3.3 Vergleich zwischen IE-1-, und pp65-Spots	80
4.3.4. ELISpot als Prädiktor für eine CMV-Infektion?.....	80
4.3.5 Einwirkung der Immunsuppression auf die Spotanzahl	82
4.4. Limitationen	84
4.5. Ausblick auf zukünftige Strategien.....	84
4.6. Zusammenfassung	85
5.0 Literaturverzeichnis	86
Danksagung	91
Tabellarischer Lebenslauf.....	92

Abkürzungsverzeichnis

APC – Antigen präsentierende Zellen
CD – Cluster of Differentiation
CMV – Cytomegalovirus
CYA- Cyclosporin A
EBV-Ebstein Barr Virus
EVE- Everolimus
HHV 5 – Herpesvirus Nr. 5
HCMV – humanes Cytomegalievirus
IgG- Immunglobulin G
IgM – Immunglobulin M
IFN- γ - Interferon- γ
KC – Kupfer Cell (Kupfer Zelle)
KS – Kolmogorov-Smirnov-Test
LSEC – Liver sinusoidal Endothel Cells
LTX – Lebertransplantation
MHC I – Major histocompatibility complex I
MHC II – Major histocompatibility complex II
MIE – Major immediate early
MMF – Mycophenol mofetil
MOF – Multiorganversagen (Multiorgan Failure)
MWU-Mann Whitney-U-Test
NPV-Negativ predictive Value (5ositive Vorhersagewert)
NTX- Nierentransplantation
TAC- Tacrolimus
TNF- α -Tumor necrosis factor alpha
URB – Urbason
PAMP- Pathogen associated molecular pattern
PBMC- periphere mononukleäre Zellen
PCR- Polymerase Chain Reaction
PHA- Phytohemagglutinin-L
PPV- positive predictive Value (5ositive Vorhersagewert)
PTLD-Post Transplant lymphoproliferative Disorder
SW – Shapiro-Wilk Test
SOT- Solid Organ Transplantation
TCR – T-Zell Rezeptor

Abbildungsverzeichnis

Abbildung Nr.1: Morphologischer Aufbau des CMV aus Tomtishen III JP. Human cytomegalovirus tegument proteins (pp65, pp71, pp150, pp28). Virol J. Dezember 2012

Abbildung Nr.2: Übersicht über den Replikationszyklus des Cytomegalievirus aus Beltran PM et. al. The life cycle and pathogenesis of human cytomegalovirus infection: lessons from proteomics. Expert Rev Proteomics.

Abbildung Nr.3: Latenzbildung nach CMV-Infektion aus Collins-McMillen D et. al. Molecular Determinants and the Regulation of Human Cytomegalovirus Latency and Reactivation. Viruses. 20. August 2018

Abbildung Nr.4: Ablauf des ELISpots: 2) Bindung des Ag an den Antikörper. Sekretion von IFN g (lila Punkte) 3) Bindung des AK und der AP. 4) Färbung der Spots

Abbildung Nr.5: Beispielhafte Darstellung einer Ficoll -Dichtegradientenzentrifugation aus Wa Shi Low et. al. Benchtop Technologies for Circulating Tumor Cells Separation based on biophysical Properties BioMed Research international 2015

Abbildung Nr.6: Versuchsanordnung des ELISpot.

Abbildung Nr.7: Re-LTX im eigenen Patientenkollektiv 2020-2021

Abbildung Nr. 8: Nachweis von CMV-Virusmaterial im Serum mittels PCR innerhalb des ersten Jahres nach Lebertransplantation

Abbildung Nr.9: Anzahl der CMV-Infektionen innerhalb des ersten Jahres nach LTX.

Abbildung Nr.10: Überlebensanalyse von Patienten mit und ohne CMV-Infektion innerhalb des stationären Aufenthalts nach Lebertransplantation.

Abbildung Nr.11: Streudiagramm der Patienten mit und ohne CMV-Infektion und der Krankenhausverweildauer

Abbildung Nr.12: Boxplot Alter und CMV-Infektion

Abbildung Nr 13: CMV-Infektionen innerhalb der ersten 3 Monate und labMELD

Abbildung Nr.14: CMV-Infektion und labMELD bei High Risk Patienten

Abbildung Nr.15: CMV-Infektion und labMELD bei intermediate Risk Patienten

Abbildung Nr.16: CMV-IgG-Status und Spotanzahl vor Transplantation.

Abbildung Nr.17: ELISpot Response, Non-Responder 35% (blau), Weak Responder 18% (orange), Strong Responder (grau)

Abbildung Nr.18: Liniendiagramm der pp65 Spotanzahl im zeitlichen Verlauf bei seropositiven Patienten (präoperativ, nach 3,6,12 Monaten)

Abbildung Nr.19: Liniendiagramm der IE-1 Spotanzahl im zeitlichen Verlauf bei seropositiven Patienten (präoperativ, nach 3,6,12 Monaten)

Abbildung Nr.20: Liniendiagramm der IE1 Spots im zeitlichen Verlauf (präoperativ, nach 3,6,12 Monaten) bei seropositiven Patienten ohne CMV-Infektion

Abbildung Nr.21: Liniendiagramm der pp65 Spots im zeitlichen Verlauf (präoperativ, nach 3,6,12 Monaten) bei seropositiven Patienten ohne CMV-Infektion

Abbildung Nr.22: Fall 1: Verlauf der Spotanzahl nach CMV-Reaktivierung.

Abbildung Nr.23: Fall 2: Verlauf der Spotanzahl nach CMV-Reaktivierung.

Abbildung Nr. 24: Fall 3: Verlauf der Spotanzahl nach CMV-Neuinfektion bei LTX24.

Abbildung Nr. 25: Fall 4: Verlauf der IE1 und pp65 Spotanzahl nach CMV-Reaktivierung

Abbildung Nr. 26: Boxplot: Vergleich der präoperativen IE1 Spots zwischen Patienten mit und ohne CMV-Infektion nach Transplantation.

Abbildung Nr. 27: Boxplot: Vergleich der präoperativen pp65 Spots zwischen Patienten mit und ohne CMV-Infektion nach Transplantation.

Abbildung Nr. 28: Streudiagramm: labMELD und pp65-Spots präoperativ.

Abbildung Nr. 29: Streudiagramm: labMELD und IE1-Spots präoperativ.

Abbildung Nr. 30: Streudiagramm: IE1-Spots (Y-Achse) und Tacrolimus Spiegel (X-Achse) nach 3 Monaten.

Abbildung Nr. 31: Streudiagramm: IE1-Spots (Y-Achse) und Tacrolimus-Spiegel (X-Achse) nach 6 Monaten.

Abbildung Nr. 32: Streudiagramm: IE1-Spots (Y-Achse) und Tacrolimus-Spiegel (X-Achse) nach 12 Monaten

Abbildung Nr. 33: Streudiagramm: pp65-Spots (Y-Achse) und Tacrolimus-Spiegel (X-Achse) nach 3 Monaten

Abbildung Nr. 34: Streudiagramm: pp65-Spots (Y-Achse) und Tacrolimus-Spiegel (X-Achse) nach 6 Monaten

Abbildung Nr. 35: Streudiagramm: pp65-Spots (Y-Achse) und Tacrolimus-Spiegel (X-Achse) nach 12 Monaten

Abbildung Nr. 36: Tacrolimus Dosierung (mg) und Spiegel(ng/ml) im zeitlichen Verlauf (bei Entlassung, nach 3,6,12 Monaten)

Tabellenverzeichnis

Tabelle Nr.1: Definition des CMV-Syndroms aus Ljungman et. al. Definitions of Cytomegalovirus Infection and Disease in Transplant Patients for Use in Clinical Trials: Clin. Infect Dis. January 2017.

Tabelle Nr. 2: Indirekte und direkte Effekte einer CMV-Infektion aus Razonable R. et. al. Direct and indirect effects of cytomegalovirus: can we prevent them? Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. January 2010

Tabelle Nr.3: klinikinternes Steroid Reduktionsschema. *AIH=Autoimmunhepatitis

Tabelle Nr.4: Dosisanpassung bei Niereninsuffizienz gemäß klinikinterner SOP zur Infektionsprophylaxe

Tabelle Nr.5: CMV-Infektionsrisiko abhängig vom CMV-IgG nach Lebertransplantation

Tabelle Nr.6: Definition der CMV spezifischen Immunantwort im ELISpot

Tabelle Nr.7: Altersverteilung im eigenen Patientenkollektiv

Tabelle Nr.8: Mortalitätsanalyse aller verstorbenen Patienten innerhalb des ersten Jahres nach Lebertransplantation

Tabelle Nr. 9: Indikationen zur Lebertransplantation in Jahren1 2020-2022

Tabelle Nr.10: Deskriptive Analyse des labMELD

Tabelle Nr.11: Risikokonstellationen in der Patientenkohorte

Tabelle Nr.12: Prophylaxe und Risikokonstellationen

Tabelle Nr.13: Patientenzahl und die jeweilige Immunsuppression bei Entlassung, nach 3, 6 und 12 Monaten

Tabelle Nr.14: Kombinationen der Immunsuppression bei Entlassung, nach 3,6 und 12 Monaten

Tabelle Nr.15: CMV-Reaktivierung/Neuinfektion in Bezug auf die Risikogruppe

Tabelle Nr.16: CMV-Infektionen innerhalb der Patientengruppe mit mittlerem Risiko

Tabelle Nr.17: Tabelle Nr. 21: Immunsuppression und CMV-Infektion bei Entlassung. Statistische Auswertung mittels Chi X² Test. Relatives Risiko (RR) und statistische Signifikanz

Tabelle Nr.18: Immunsuppression und CMV-Infektion zwischen dem 3. Und 6. Monat. Statistische Auswertung mittels Chi X² Test. Relatives Risiko (RR) und statistische Signifikanz

Tabelle Nr.19: deskriptive Analyse des labMELD bei Patienten mit und ohne CMV-Infektion

Tabelle Nr.20: Testung der IE-1-Daten auf Normalverteilung mit dem Shapiro-Wilk-Test

Tabelle Nr.21: Testung der pp65-Daten auf Normalverteilung mit dem Shapiro-Wilk-Test

Tabelle Nr.22: deskriptive Analyse der pp65-Spots im zeitlichen Verlauf (präoperativ, nach 3,6,12 Monaten)

Tabelle Nr.23: deskriptive Analyse der IE1-Spots im zeitlichen Verlauf (präoperativ, nach 3,6,12 Monaten)

Tabelle Nr.24: Deskriptive Subgruppenanalyse der IE1 Spots im zeitlichen Verlauf (präoperativ, nach 3,6,12 Monaten) bei Patienten mit seropositivem CMV-IgG-Status ohne CMV-Reaktivierung

Tabelle Nr.25: Deskriptive Subgruppenanalyse der pp65-Spots im zeitlichen Verlauf (präoperativ, nach 3,6,12 Monaten) bei Patienten mit seropositivem CMV-IgG-Status ohne CMV-Reaktivierung

1. Einleitung

Das humane Cytomegalievirus (HCMV) ist die häufigste opportunistische Infektion nach Lebertransplantation. Während eine Infektion mit dem Virus bei Immunkompetenz meistens keine, beziehungsweise selten leichte grippale Symptome verursacht, kann sie sich bei einer Immunschwäche, wie sie nach einer Transplantation vorliegt, zu einer Systemerkrankung entwickeln. Da ein Großteil der erwachsenen Bevölkerung seropositiv ist und das Virus mit dem transplantierten Organ übertragen werden kann, kommt es nach einer Transplantation nicht selten zu einer Re-Infektion, einer sogenannten Reaktivierung des Organ-Empfängers. Insbesondere nach Nieren- und Lebertransplantation zeigen sich CMV-Infektionen häufig. Bleibt eine Infektion mit CMV nach Transplantation unbehandelt, kann das nicht nur die Funktionalität des neuen Organs gefährden, sondern erhöht im schlimmsten sogar die Mortalität. Daher sind eine engmaschige Kontrolle und ggf. eine Therapieeinleitung im klinischen Alltag unabdingbar.

In dieser Arbeit soll es um die Analyse der CMV-Infektionen nach Lebertransplantation im eigenen Patientengut gehen. Dabei wurden die CMV-Daten aller lebertransplantierten Patienten im Zeitraum zwischen 2020-2021 ausgewertet. Weiterhin wurde untersucht, ob der MELD-Score, oder die Überwachung der CMV-spezifischen Immunität durch einen ELISpot zur Risikostratifizierung von einer CMV-Infektion beitragen kann. Hierfür wurden die ELISpot-Daten einer Studie zur Untersuchung der Immunreaktivität nach Organtransplantation ausgewertet und interpretiert.

1.1 Epidemiologie

Das Cytomegalievirus ist weltweit verbreitet und ca. 60-90% der Erwachsenen infizieren sich im Laufe ihres Lebens (1). In einer Metaanalyse von Zuhair et. al zeigte sich ein Gefälle der durchschnittlichen Seroprävalenz zwischen den Industrieländern und den Ländern im mittleren Osten. In der Untersuchung schnitt die Türkei mit den höchsten Werten (97%), die europäische Union mit den niedrigsten Werten (66%) ab (2). Diese Unterschiede sind am ehesten durch soziökonomische Faktoren zu erklären. Untersuchungen zur CMV Verteilung in Deutschland aus dem Jahr 1998 zeigten in der erwachsenen Bevölkerung (n=6552) zwischen 18-79 eine Seroprävalenz von ungefähr 56,7% (3). Zudem waren mehr Frauen (62,3%) als Männer (51%) seropositiv. Die Prävalanz stieg mit dem Alter und war abhängig von der Region (Nord > Süd). Auch in anderen Studien wurden Alter, Geburtsort und Geschlecht als unabhängige Risikofaktoren für die CMV-Prävalenz identifiziert (4).

1.2 Grundlagen der Immunologie

Zum Verständnis der Pathophysiologie des Cytomegalievirus sind Grundkenntnisse der Immunologie notwendig. Das Immunsystem ist eine körpereigenes, komplexes Schutzsystem zur Abwehr von Krankheitserregern, und tumorartig veränderter Zellen. Es besteht aus der Gesamtheit aller immunologisch aktiven Zellen immunkompetenter Organe. Zu diesen zählen u.a. Thymus, Milz, Lymphknoten, Knochenmark, gastrointestinale lymphatische Organe. Auslöser einer Immunantwort sind Antigene, komplexe Moleküle, die aus Proteinen, Kohlenhydraten oder Lipiden bestehen. Grundsätzlich unterscheidet man zwischen einer spezifischen (adaptiven) und einer unspezifischen (angeborenen) Immunantwort.

1.2.1. Angeborene Immunantwort

Die angeborene Immunantwort dient als Basisabwehr und ist unabhängig von der Erregerspezies. Hat ein Erreger die körpereigenen Schutzbarrieren, wie zum Beispiel die Schleimhaut des Respirations-, oder Magendarmtrakts überwunden, erkennen die Zellen der unspezifischen Immunantwort Erregerbausteine, sog. PAMPs (pathogen associated molecular pattern) und leiten daraufhin eine ungerichtete Immunreaktion ein. Diese besteht in der schnellen und direkten Abtötung von Erregern und entarteten Zellen, sowie in der Antigenpräsentation und letztendlich der Aktivierung des spezifischen Immunsystems. Wichtige Zellen der angeborenen Immunantwort sind phagozytotische Zellen, die Krankheitserreger aufnehmen und zerstören können, bevor sie in die Zellen eindringen sowie natürliche Killerzellen (NK-Zellen), die bestimmten Virusinfektionen.

1.2.2. Adaptive Immunantwort

Im Vergleich zum angeborenen Immunsystem, das einen schnellen, aber ungerichteten Abwehrmechanismus darstellt, kommt es bei der adaptiven Immunantwort zu einer präzisen, erregerspezifischen Reaktion. Hierbei werden erregerspezifische Antigene durch antigenpräsentierende Zellen (engl. APC) den Zellen des spezifischen Immunsystems präsentiert, die dann durch verschiedene Mechanismen eine zielgerichtete Immunantwort einleiten. Hauptakteure sind dabei die Lymphozyten, vor allem B- und T- Lymphozyten.

1.2.3. T-Lymphozyten

T-Zellen sind ein zentraler Bestandteil des adaptiven Immunsystems, und ihre Effektorfunktionen werden zusammenfassend als zelluläre Immunantwort definiert. Dabei bildet sich eine große Anzahl von verschiedenen T-Zell-Subtypen mit unterschiedlichen Effektorfunktionen aus. Die T-Zellen können anhand zellspezifischer Oberflächenmoleküle, dem sog. Cluster of Differentiation (kurz CD), unterschieden werden. Reife T-Zellen können grob in CD4⁺ T-Lymphozyten, die allgemein eine Helferfunktion besitzen, und CD8⁺ T-Lymphozyten, die eine zytotoxische Funktion besitzen, unterteilt werden.

1.2.4 Zelluläre Immunantwort

T-Zellen erkennen Antigene im Nativzustand nicht, weshalb ein Antigen durch eine Antigenpräsentierende Zelle (engl. APC) präsentiert werden muss, um die T-Zelle zu aktivieren. Die Antigenpräsentierende-Zelle nimmt das Antigen auf, prozessiert dieses und präsentiert es anschließend über den sog. Haupthistokompatibilitätskomplex (engl. Major histocompatibility complex, MHC) der T-Zelle. Durch Ausschüttung verschiedener chemischer Botenstoffe, sogenannten Zytokinen beginnt dann die Proliferation antigenspezifischer Effektor-T-Zellen.

1.2.5 B-Lymphozyten

B-Zellen gehören zu den APCs und entstammen dem Knochenmark. B-Zellen zirkulieren im Blut und zwischen den sekundären Lymphorganen, bis ein passendes Antigen gefunden wurde. Das Antigen wird prozessiert und auf der Zelloberfläche präsentiert. Die B-Zelle migriert dann in die sekundären Lymphorgane wo die B-Zelle zur Plasmazelle reift und anschließend massenhaft antigenspezifische Antikörper produziert. Die Antikörper können dann überall im Körper die spezifischen Antigene durch direkte Neutralisation, Aktivierung weiterer Immunzellen oder einer Komplementkaskade unschädlich machen. Die Antikörperantwort wird auch als humorale Immunantwort bezeichnet.

1.2.6 Antivirale Immunreaktion

In der antiviralen Immunreaktion spielen sowohl B-Zellen als auch T-Zellen eine besondere Rolle. Der virale Replikationszyklus findet ausschließlich intrazellulär statt. Nach abgeschlossener Replikation wird die Wirtszelle zerstört und das Virus in den extrazellulären Raum freigesetzt, um weitere Zellen zu infizieren. B-Zellen sind insbesondere bei der Abwehr viraler Bestandteile (Virämie) im extrazellulären Raum notwendig. Von B-Zellen produzierte Antikörper können die Adhäsion des Virus an die Wirtszelle verhindern und zusammen mit dem Komplementsystem eine Neutralisation des Virus bewirken.

Die Bekämpfung des Virus in der intrazellulären Phase erfolgt durch T-Zellen. Hierfür wird das virale Antigen durch APCs via MHC-II $CD4^+$ T-Zellen und via MHC-I $CD8^+$ T-Zellen präsentiert. Die durch das Antigen aktivierte $CD4^+$ Zelle schüttet Zytokine aus, die weitere $CD4^+$ T-Zellen aktivieren. Ein wichtiges ausgeschüttetes Zytokin ist IL-2, welches die Proliferation von weiteren T-Zellen fördert und gleichzeitig als zweites Signal zur vollständigen Aktivierung der $CD8^+$ Zelle dient. IL-2 induziert eine weitere Reifung und Differenzierung der $CD8^+$ T-Zelle, bis diese nach Abschluss der Reifung die infizierte Zelle zerstören kann. Ein weiteres Zytokin das durch ein Subset von $CD4^+$ T-Zellen, den TH1-Zellen, sezerniert wird, ist Interferon- γ . Durch IFN- γ werden zusätzlich Makrophagen aktiviert.

1.3. CMV-Taxonomie und Morphologie

Das Cytomegalievirus gehört zur Familie der humanen Herpesviren (HHV 5) und kann taxonomisch der Subfamilie der Betaherpesviridae zugeordnet werden. Neben den Betaherpesviren gibt es noch die Gammaherpesviren und Alphaherpesviren, zu denen die Herpes-simplex- und Varizella-zoster-Viren gehören. Zu den Gammaherpesviren zählen das Epstein-Barr-Virus und das Kaposi-Sarkom-assoziierte Herpesvirus.

CMV kommt sowohl beim Menschen als auch beim Tier vor, eine Übertragung zwischen verschiedenen Spezies ist aber noch nicht beobachtet worden (5). Als Dann-Virus ist es das größte unter den Herpesviren und kann strukturell in 3 Regionen unterteilt werden: Das ikosaedrische Kapsid, welches die doppelsträngige DNA mit dem viralen Genom enthält, das Tegument, eine innere Hüllstruktur, und die äußere Hülle (Abb.1) (6)(7). Das Tegument liegt zwischen dem Kapsid und der Hülle und beinhaltet virale Proteine, die zur Aufrechterhaltung der strukturellen Integrität notwendig sind (7).

Das Kapsid und das Tegument besteht aus mehreren viralen Proteinen, deren Funktionen größtenteils unbekannt sind (8). Einige Tegumentproteine sind jedoch wegen ihrer Funktion im Replikationszyklus von besonderem Interesse für die Forschung. Das häufigste und wichtigste Tegumentprotein ist pp65, welches insbesondere in der Immunmodulation der humoralen und zellulären Immunabwehr der Wirtszelle eine Rolle spielt. Es inhibiert die Synthese mehrerer menschlicher Immunprodukte, vermeidet die Erkennung viraler Proteine und verhindert den Abbau infizierter Zellen durch das Immunsystem (9).

Die äußere Hülle besteht aus einer zellulären Lipidschicht mit viralen Glykoproteinen, welche für die Anheftung an die Wirtszelle und den Zelleintritt wichtig sind (8). Isaacson et. al. konnten in ihren Versuchen das Glykoprotein-gB in der Lipid-Membran deaktivieren und zeigen, dass gB-negative-Cytomegalieviren danach zwar noch in der Lage waren, sich an die Wirtszelle anzuheften, die Fusion mit der Membran der Wirtszelle war allerdings nicht möglich (10). Die Glykoprotein-Komplexe sind Zielstrukturen in der Forschung für Impfstoffe.

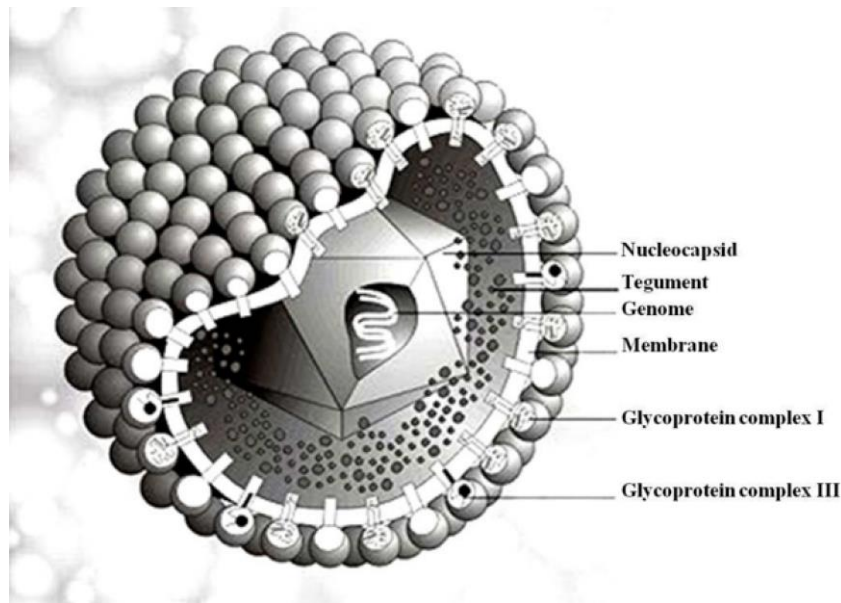


Abbildung Nr. 1. Morphologischer Aufbau des CMV aus Tomtishen III et. al. Human cytomegalovirus tegument proteins (pp65, pp71, pp150, pp28). Virol J. Dezember 2012

1.4. Replikationszyklus

CMV kann ein breites Spektrum an Körperzellen infizieren. Insbesondere Fibroblasten, Endothelzellen und Makrophagen sind betroffen, wobei letztere eine Rolle bei der hämatogenen Streuung und Latenzbildung zu spielen scheinen (11).

Wie bei den meisten Herpesviren, erfolgt die Anheftung an die Wirtszelle über die Glykoproteine der äußeren Hülle. Abhängig vom Zelltyp, finden dabei mehrere Prozesse statt. Durch die Formierung eines Pentamer-Komplexes zwischen Glykoprotein gH/gL mit anderen Proteinen wird Glykoprotein-gB aktiviert und die Fusion der viralen und humanen Zellmembran initiiert (1). Nachdem Tegument und Kapsid des Virus ins Cytoplasma der Wirtszelle eingedrungen sind, migrieren diese zum Nukleus. Bei diesem Transportprozess interagieren Tegument-Proteine mit den intrazellulären Mikrotubuli (12). Gleichzeitig werden durch Tegument-Proteine wie pp65 zelluläre Immunprozesse inhibiert und die Produktion weiterer viraler Proteine kaskadenartig stimuliert und reguliert (13). Die dabei entstehenden Proteine werden gemäß ihrer zeitlichen Entstehung in immediate-early (IE), delayed-early (DE), und late (L) Proteine unterteilt. Die IE-Proteine optimieren die zelluläre Umgebung der Wirtszelle für die Replikation des viralen Genoms (14). Ohne sie können DE- und L-Proteine anschließend nicht transkribiert und exprimiert werden. Die DE-Proteine sind für die DNA-Synthese bzw. Replikation des viralen Genoms wichtig, während die L-Proteine nach abgeschlossener Replikation für den Bildung eines neuen Kapsids und die anschließende Emigration aus dem Nukleus ins Zytosol notwendig sind (13). Hat das Kapsid das Zytosol

einmal erreicht, formiert sich durch virale Manipulation des endoplasmatischen Reticulums und Golgi-Apparates ein viraler Montagekomplex (engl. viral assembly complex, AC) (15). Im AC wird dann eine neue Tegument-Schicht sowie die äußere Hülle des Cytomegalievirus gebildet, in Vesikel einschnürt und anschließend via Exozytose in den extrazellulären Raum entlassen.

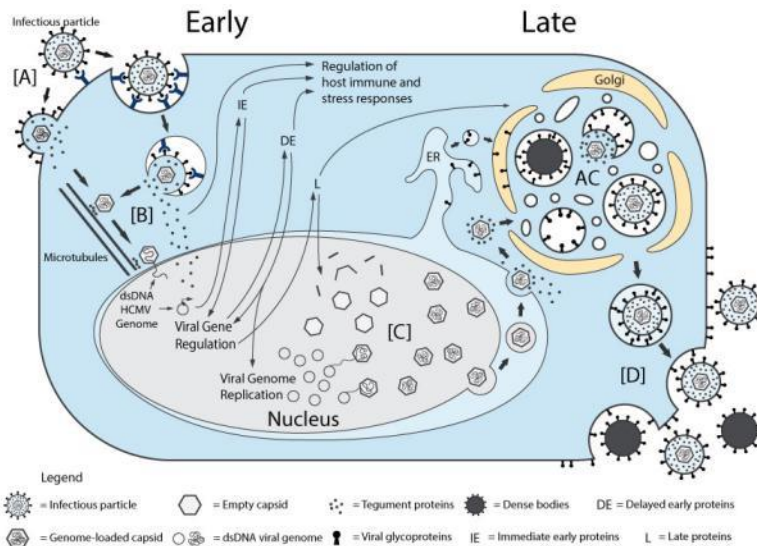


Abbildung Nr. 2: Übersicht über den Replikationszyklus des Cytomegalovirus aus Beltran PM et. al. *The life cycle and pathogenesis of human cytomegalovirus infection: lessons from proteomics. Expert Rev Proteomics.*

1.5 Primärinfektion und Latenzbildung

Die lebenslange Latenz nach Primärinfektion ist eine immanente Eigenschaft der Herpesviren-Familie und ist definiert als Persistenz des viralen Genoms ohne Nachweis einer Virusreplikation. Das Virus entgeht dem Immunsystem weitgehend, indem es die virale Replikation minimiert und sich Nischen zur Latenzbildung sucht. Dennoch sind zur weiteren Verbreitung immer wieder Reaktivierungsepisoden mit viraler Replikation notwendig (16). Trotz des hohen Zelltropismus, also der Möglichkeit, viele Zellen zu infizieren, eignen sich für die Latenzbildung vor allem Zellen des hämatopoetischen Systems. Die Primärinfektion erfolgt über jede Form von Körperflüssigkeit, zum Beispiel Speichel, Urin oder Brustmilch. Nach initialer Infektion des Schleimhautepithels gelangt das Virus in Kontakt mit peripheren Monozyten, die es infiziert (16). Wegen der kurzen Lebensdauer der Monozyten, wird schließlich durch die virale Manipulation intrazellulärer Signalwege die Differenzierung in langlebige Makrophagen induziert (17). Durch Aktivierung intrazellulärer Signalwege wird die Migration ins Extravasat stimuliert, wo durch die Infektion hämatopoetischer Stammzellen lebenslange Persistenz erreicht wird (18)(19).

1.6. Pathomechanismus der CMV- Reaktivierung

Die zellulären Mechanismen, mit denen CMV das Immunsystem manipuliert, um nicht entdeckt zu werden und eine lebenslange Persistenz zu bilden, sind komplex und von verschiedenen Autoren ausführlich erörtert worden (19).

Sepsis, Immunsuppression oder sonstige kritische Erkrankungen bewirken eine reduzierte „Überwachung“ des Virus durch das Immunsystem, insbesondere durch T-Zellen, sodass es zu einer CMV-Reaktivierung mit erneuter Virusreplikation kommt. Die Reaktivierung wird durch eine erneute Differenzierung der myeloischen Zelllinie, also von Stammzellen in Monozyten/Makrophagen und dendritischen Zellen ausgelöst (Abb.3) (20). Durch die Aktivierung pro-inflammatorischer Zytokine, insbesondere TNF- α , wird einer der wichtigsten Genloci des CMV, die Major immediate early (MIE) Region aktiviert, durch die dann schließlich IE-Proteine (Genprodukte) exprimiert werden, welche das Zellmilieu für die Virusreplikation optimieren (1) (21).

Diese Erkenntnis konnte auch klinisch bestätigt werden: Eine Arbeitsgruppe der Berliner Charité konnte bei 60 septischen Patienten eine CMV-Reaktivierung nachweisen. Zudem fiel die Testung auf die Zytokine Interferon- γ und TNF- α bei einem Großteil der untersuchten Patienten statistisch signifikant positiv aus (22). Eine Metaanalyse von Xi Li et. al. zeigte ebenfalls eine hohe Inzidenz an CMV-Reaktivierungen unter Intensivpatienten. Patienten mit einer CMV-Reaktivierung mussten signifikant länger beatmet werden und waren von einer deutlich höheren Mortalität und Morbidität betroffen (23). Diese Fälle zeigen, dass die CMV-Reaktivierung auch ohne medikamentöse Immunsuppression klinisch relevant sein kann und neben der Immunsuppression auch ein pro-inflammatorischer Zustand ein Auslöser für eine CMV-Reaktivierung zu sein scheint. Auch der Prozess der Transplantation geht mit einer substantiellen Entzündungsreaktionen einher, was eine Reaktivierung begünstigt. Die medikamentöse Immunsuppression verstärkt diesen Prozess zusätzlich.

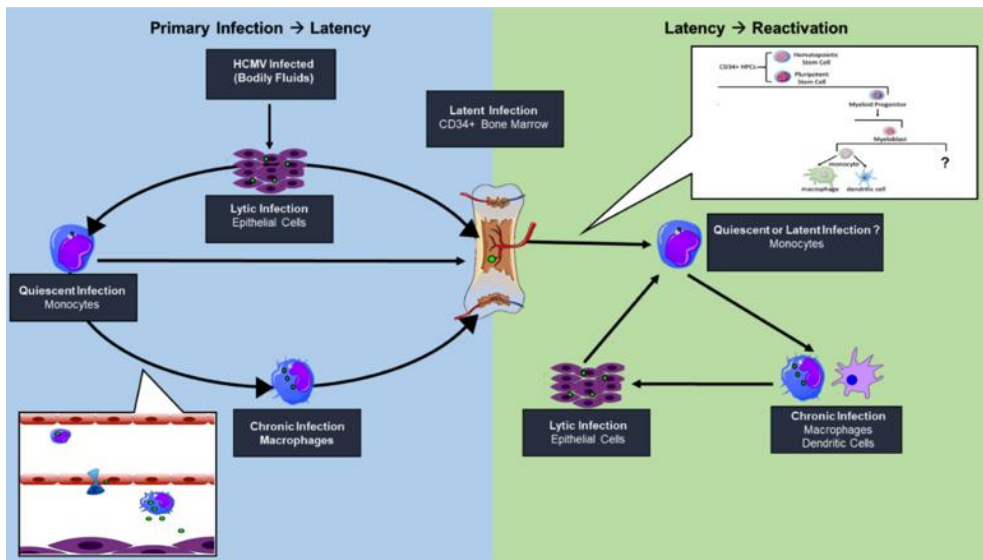


Abbildung Nr. 3: Latenzbildung nach CMV-Infektion aus Collins-McMillen D et. al. *Molecular Determinants and the Regulation of Human Cytomegalovirus Latency and Reactivation. Viruses.* 20. August 2018

1.7 Definition der Erkrankung und Symptomatik

Neben bakteriellen Infektionen erhöht insbesondere die Infektion mit dem Cytomegalievirus die Mortalität und Morbidität nach Organ- und Stammzelltransplantation signifikant (24). Während eine Infektion mit CMV bei immunkompetenten Menschen meistens asymptomatisch verläuft, kann sie sich bei supprimiertem Immunsystem oder in der Schwangerschaft zu einer problematischen Systemerkrankung entwickeln. Seropositive schwangere Frauen können das Virus diaplazentar auf den Fötus übertragen, die Folge ist eine kongenitale CMV-Infektion, die zu einem sensorischen Hörverlust und kognitiven Defizit des Kindes führt (25). Bei Immunsuppression, z.B. nach Organtransplantation kann sich die Infektion zu einer lebensbedrohlichen Systemerkrankung entwickeln.

In den jüngsten Leitlinien zur CMV-Infektion bei Organtransplantation (engl. Solid Organ Transplantation, SOT) der amerikanischen Gesellschaft für Transplantation (engl. American Society of Transplantation) wird eine Infektion in mehrere Stadien unterteilt (26). Hiernach ist eine CMV-Infektion als Nachweis dann CMV-DNA Replikationen in Gewebe oder Blut, ohne Symptomatik definiert. Eine CMV-Erkrankung ist definiert als CMV-Infektion, die von Symptomen begleitet wird. Die Erkrankung kann weiterhin eingeteilt werden in ein CMV-Syndrom und eine Endorganerkrankung. Ljungman et. al. definieren ein CMV-Syndrom als wahrscheinlich bei einem positiven Nachweis des Virus im Blut mit mindestens zwei der folgenden Symptome (siehe Tab.1) (27).

CMV-Syndrom

Positiver CMV-Nachweis im Blut +

- a) Fieber $>38^{\circ}\text{C}$ für mindestens 2 Tage
- b) Neu aufgetretene Abgeschlagenheit oder Fatigue
- c) Leukopenie oder Neutropenie, gemessen an zwei Zeitpunkten (mind. 24h Abstand):
Leukozyten $< 3,5$, wenn die Leukozytenzahl vor Entwicklung der Symptome $> 4,0$ war
oder ein Abfall der Leukozyten $>20\%$, wenn die Leukozytenzahl vor Entwicklung der Symptome $<4,0$ war
- d) $> 5\%$ atypische Lymphozyten
- e) Thrombozytopenie: $<100.000/\text{mL}$ wenn die Thrombozytenzahl vor Entwicklung der Symptome $115.000/\text{mL}$ war **oder** einen Abfall um 20% wenn die Thrombozytenzahl vor Entwicklung der Symptome $< 115.000/\text{mL}$ war
- f) Erhöhte Transaminasen über das Zweifache des Normwertes (nicht anwendbar bei Lebertransplantation)

Tabelle Nr. 1: Definition des CMV-Syndroms aus Ljungman et. al. Definitions of Cytomegalovirus Infection and Disease in Transplant Patients for Use in Clinical Trials: Clin. Infect Dis. January 2017

Von einer Endorganerkrankung wird gesprochen, wenn das Virus im jeweiligen Gewebe, das von der Erkrankung betroffen ist, nachgewiesen werden kann. Hierbei ist nach Organtransplantation insbesondere das jeweils transplantierte Organ für eine Endorganerkrankung prädestiniert (28).

1.8 Late Onset CMV-Infektion

Neben der pathologischen Definition kann eine CMV-Infektion auch gemäß dem zeitlichen Auftreten unterteilt werden. Während eine CMV-Reaktivierung/Infektion nach Transplantation in der Regel innerhalb der ersten 3 Monate nach Transplantation auftritt, wird eine Reaktivierung danach als Late Onset CMV-Infektion definiert(29). CMV-Reaktivierungen nach einem Jahr treten selten auf, kommen aber vor. Das höchste Risiko mit bis zu 30% für eine Late Onset CMV-Reaktivierung tragen seronegative Empfänger eines seropositiven Spenderorgans (29).

1.9. Direkte und indirekte Effekte einer CMV-Erkrankung

Rayzouable et. al. haben die Symptome und Endorganerkrankung als direkte Effekte definiert (28). Daneben kann eine unkontrollierte CMV-Infektion vermutlich wegen der immunmodulierenden Eigenschaften des Virus auch zu indirekten Effekten führen (28)(30). So scheint eine CMV-Infektion invasive Pilzinfektionen und Infektionen anderer opportunistischer Erreger zu begünstigen (31). Im transplantierten Organ kommt es zu einem

histologischen Umbau der Gefäßstruktur, was schließlich in einer akuten oder chronischen Abstoßung enden kann (Tab.2) (28). In einer 1999 im New England Journal of Medicine veröffentlichten Studie konnten Lowance et. al. zeigen, dass seronegative Patienten, die eine antivirale CMV-Prophylaxe erhielten seltener eine bioptisch gesicherte akute Abstoßung (engl. BPAR) hatte, als seronegative Patienten die nur einen Placebo erhielten (26% vs. 52%, p=0,001)(32).

Es verdichten sich die Hinweise, dass CMV zu pathologischen Veränderungen und nachhaltigen Schäden des Gefäßsystems führt. So konnte in einer Metaanalyse von Wang et. al. gezeigt werden, dass mit CMV infizierte Personen ein bis zu 22% höheres Risiko haben, eine kardiovaskuläre Erkrankung zu entwickeln (33). Neben einem direkten Schaden am vaskulären Endothel produzieren die CMV-infizierten Zellen pro-atherogene Zytokine, die langfristig zu einer Atherosklerose führen (34).

Direkte Effekte	Indirekte Effekte
CMV-Syndrom	Akute Abstoßung
Endorgan-Erkrankung <ul style="list-style-type: none"> • CMV-Hepatitis • CMV-Kolitis • CMV Pneumonitis • CMV-Retinitis • CMV-Nephritis • CMV-Pankreatitis • CMV-Myokarditis • Etc. 	Chronische Abstoßung <ul style="list-style-type: none"> • Bronchiolitis obliterans • Transplantat-Vaskulopathie • Tubulointerstitielle Fibrose
	Opportunistische Infektionen <ul style="list-style-type: none"> • Fungale Superinfektion • Norcardiosis • Bakterielle Superinfektion • EBV und PTLD • Andere Viren
	NODM
	Atherosklerose/Thrombose
Erhöhte Mortalität	Erhöhte Mortalität

Tabelle Nr.2: Indirekte und direkte Effekte einer CMV-Infektion aus Razonable R. et. al. Direct and indirect effects of cytomegalovirus: can we prevent them? Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. January 2010

1.10. Die Leber als immunologisches Organ – eine Sonderstellung

Die Leber nimmt unter den transplantierbaren Organen eine immunologische Sonderstellung ein. Durch den portalvenösen Blutzustrom ist die Leber ständig Allo-Antigenen ausgesetzt. Aufgrund immanenter immunsuppressiver Eigenschaften der Leber kommt es aber nicht zu einem dauerhaften Entzündungszustand. Diese tolerogenen Eigenschaften der Leber konnten erstmal 1969 von Calne et. al. in der Transplantation von MHC-Mismatch Lebern im Schwein nachgewiesen werden (35). Damals kam es trotz fehlender Immunsuppression zu einer Toleranzausbildung. Vermutlich ist die Vermeidung dauerhafter Entzündungszustände für die regenerativen Eigenschaften der Leber notwendig (36). Viele Leberzellen, wie die Hepatozyten oder Kupffer-Zellen fungieren selbst als antigenpräsentierende Zellen und können mittels Zytokinausschüttung immunsuppressive T-Zellen stimulieren, die wiederum Immunantworten herunterregulieren (37)(38).

Aus diesem Grund ist die Leber wegen der „mangelnden“ immunologischen Überwachung als Ort für Tumor/Metastasenbildung, sowie Infektionen mit parasitären (Echinokokkose) und viralen (Hepatitis) Erregern prädestiniert. In der Transplantationsmedizin sind die immunsuppressiven und tolerogenen Eigenschaften der Leber von Vorteil, da sie eine geringe lebenslange medikamentöse Immunsuppression, oft mit nur einem Medikament, ermöglichen.

1.11. Immunsuppression

Die Immunsuppression nach der Lebertransplantation erfolgt nach klinikinternem Schema, standardisierte Leitlinien stehen aktuell keine zur Verfügung. In der Regel wird die lebenslange Therapie mit einer Steroidtherapie und einem Calcineurin-Inhibitor, meistens Tacrolimus eingeleitet. Die Steroiddosierung wird im Verlauf nach festem Schema reduziert und schließlich abgesetzt. Der Tacrolimus-Spiegel wird anfangs täglich gemessen und die Dosierung angepasst. Bei Zeichen einer Abstoßung wird Mycophenolat -Mofetil hinzugefügt.

1.11.1 Steroide

Glucocorticoide gehören zu den fettlöslichen Steroidhormonen und besitzen diverse metabolische Funktionen. In der Transplantationsmedizin macht man sich vor allem die immunsuppressiven Eigenschaften zu nutzen. In der Regel erhalten die Patienten während der Transplantation eine Bolusgabe. Anschließend erhalten sie abhängig vom immunologischen Risiko für 3 bzw. 6 Monate eine Steroidtherapie.

Klinikintern wurden 3 Schemata entwickelt (Tab.3):

- Steroidschema 1: Patienten mit niedrigem bzw. normalem immunologischen Risiko werden Schema 1 zugeteilt, dass eine Reduktion der Dosis auf die Erhaltungstherapie innerhalb der ersten Woche vorsieht. Nach 3 Monaten wird diese beendet.
- Steroidschema 2: Patienten mit hohem immunologischem Risiko (zum Beispiel aufgrund von Autoimmunerkrankungen) erhalten Schema 2, dass die Reduktion der Dosis auf die Erhaltungstherapie innerhalb von 3 Wochen vorsieht. Nach 6 Monaten ist diese beendet.
- Steroidschema 0: Bei lebensbedrohlichen Infekten kann auf eine Steroidgabe verzichtet werden (Schema 0).

Die Nebenwirkungen von Steroiden sind vielfältig. Hierzu zählen stammbetonte Adipositas, Diabetes mellitus, arterieller Hypertonus, Muskelatrophie, Wundheilungsstörungen, Knochenabbau.

Tag	Schema 1	Schema 2
0 (intraOP)	500mg i.v.	500mg i.v.
1	100 mg i.v.	100mg i.v.
2	80mg p.o./i.v.	80mg p.o./i.v.
3	60mg p.o./i.v.	60mg p.o./i.v.
4	40mg p.o./i.v.	40mg p.o./i.v.
5	20mg p.o./i.v.	20mg p.o./i.v.
6	16mg p.o./i.v.	16mg p.o./i.v.
7	8mg p.o./i.v.	Tag 6-13: 16mg Tag 14-20: 8mg Ab Tag 21: 4mg Stopp nach 6 Monaten Bei AIH* Dauertherapie mit 4mg
8	4mg p.o./i.v.	
	Tag 8-60: 4mg Tag 61-89: 2mg Stopp nach 3 Monaten	

*Tabelle Nr. 3: klinikinternes Steroid Reduktionsschema. *AIH=Autoimmunhepatitis*

1.11.2 Calcineurin-Inhibitoren (Tacrolimus, Cyclosporin A)

Calcineurin ist ein Enzym, das über die Transkription verschiedener Gene T-Zellen aktiviert und eine Immunantwort einleitet. Es gibt zwei immunsuppressive Medikamente auf dem Markt, die Calcineurin hemmen können: Cyclosporin A und Tacrolimus. Beides sind sogenannte „Prodrugs“ und müssen im Körper zunächst in ihre aktive Form umgewandelt werden. Cyclosporin A, das Ende der 1970er entdeckt wurde und ein Produkt norwegischer Schlauchpilze (*Clindocarpon lucidum*) ist, hatte einen entscheidenden Einfluss auf die Entwicklung der Lebertransplantation zur Routineoperation. So konnte die Überlebensrate lebertransplantiertter Patienten dank Cyclosporin A von 30% auf 70% gesteigert werden (39). Abhängig von der Dosis haben Tacrolimus und Cyclosporin A eine ähnliche Wirksamkeit. Bei beiden Medikamenten ist anfangs die tägliche Messung des Zieltalspiegels im Blut notwendig, anhand dessen die Dosis regelmäßig modifiziert werden muss, bis ein konstanter Spiegel erreicht ist. Für die Tacrolimus-Monotherapie liegt der Zieltalspiegel in der eigenen Klinik in der Regel bei 5-8ng/ml.

Abhängig von der Dosis und Konzentration der beiden Medikamente verursachen diese Nephrotoxizität, Hyperkaliämien, Diabetes und Neurotoxizität, meist in Form eines Tremors.

Weiterhin kann es zu Hirsutismus und arterieller Hypertension kommen. Langfristig führt die Nephrotoxizität in der Niere dann zur interstitiellen Fibrose und tubulären Atrophie. In der Regel wird die immunsuppressive Therapie mit Tacrolimus begonnen und bei Nebenwirkungen umgestellt. Unter Abwägung der individuellen Risikofaktoren sollte bei Vorliegen eines arteriellen Hypertonus und einer Hyperlipidämie eher Tacrolimus, bei Diabetes oder Risikofaktoren für Diabetes eher Cyclosporin A der Vorzug gegeben werden.

1.11.3 mTOR-Inhibitoren (Everolimus)

Eine weitere Klasse der Immunsuppressiva sind die „mammalian target of rapamycin“, kurz mTOR-Inhibitoren. Zu dieser Klasse zählen Sirolimus, welches vom Bakterium *Streptomyces hygroscopicus* isoliert wird, und dessen Derivat, Everolimus. Die mTOR-Kinase ist ein Enzym, welches mitunter für die Aktivierung und Proliferation von T-Helferzellen, Makrophagen, B-Zellen und NK-Zellen mitverantwortlich ist. Ursprünglich wurden mTOR-Inhibitoren zusammen mit Cyclosporin A gegeben, was zu einem deutlichen Anstieg der Nephrotoxizität und zu arterieller Hypertension geführt hat. In Kombination mit Everolimus wird daher entweder die Reduktion der Cyclosporin-Dosis, oder ein Cyclosporin freies Schema empfohlen (40). Weiterhin scheinen mTOR-Inhibitoren die Häufigkeit von CMV-Infekten zu reduzieren (41). Zudem scheinen vorteilhafte Effekte der mTOR-Inhibitoren in deren antiproliferativen und gefäßprotektiven Eigenschaften zu bestehen. Zu den Nebenwirkungen zählen Hyperlipidämie, Thrombozytopenie und verminderte Wundheilung. Außerdem kann es zu oralen Schleimhaut-Ulzera, Pneumonitis und einer Schädigung der renalen Glomeruli kommen.

1.11.4 Mycophenolat-Mofetil (MMF)

Mycophenolsäure ist ein Produkt des *Penicillium* Schimmelpilzes und liegt als weißes, kristallines Pulver vor. MMF hemmt ein für die Purinsynthese notwendiges Enzym, welches für die DNA-Synthese und Proliferation, sowie die klonale Expansion von B- und T-Zellen unerlässlich ist. Es wird in Kombination mit Tacrolimus oder Cyclosporin A gegeben. Zu den Nebenwirkungen zählen gastrointestinale Symptome, Anämie, Thrombozytopenie, und eine deutlich erhöhte Infektneigung.

1.12. Antivirale Therapie

1.12.1 Ganciclovir und Valganciclovir

Ganciclovir und die Prodrug Valganciclovir sind Nukleosid-Analoga und Erstlinienmedikamente zur Behandlung von CMV-Infektionen nach Transplantation und bei AIDS-Patienten. Die effektive Wirkung von Ganciclovir konnte bereits 1997 durch Boivin et. al. festgestellt werden: Damals zeigte sich in 26 immunkomprimierten Patienten 10 Tage nach Vergabe von Ganciclovir eine signifikante Reduktion von CMV-DNA in den Leukozyten infizierter Patienten (42). Valganciclovir wurde 2001 von der amerikanischen Aufsichtsbehörde FDA zugelassen und ist mittlerweile das am häufigsten zur Behandlung von CMV benutzte Medikament. Es darf maximal 100 Tage am Stück angewendet werden (43).

Es wird im Körper zu Ganciclovir verstoffwechselt und hat eine hohe Bioverfügbarkeit. In den Zellen wird es durch virale und zelluläre Enzyme zu Ganciclovirtriphosphat phosphoryliert und hemmt die virale DNA-Synthese.

Es wird in der Regel entweder in einer therapeutischen Dosis (900mg/Tag) oder in einer prophylaktischen Dosis (450mg/Tag) verabreicht (siehe Tab. Nr. 4). Da es stark nephrotoxisch ist, muss eine Dosisanpassung an die Nierenfunktion erfolgen. Weitere Nebenwirkungen wie Fieber, Durchfall oder Agranulozytose können auftreten.

GFR in ml/min	Dosis	Zeitintervall
>60	2x 450mg	täglich
40-59	1x 450mg	täglich
25-39	2x 450mg	Mo+Mi+Fr
10-24	1x 450mg	Mo+Do
<10	3x 100mg	Nach Dialyse

Tabelle Nr. 4: Dosisanpassung bei Niereninsuffizienz gemäß klinikinterner SOP (Standard Operating Procedure) zur Infektionsprophylaxe

1.13. Prophylaxe vs. Präemptive Strategie

Das Risiko, nach Transplantation an einer CMV-Infektion zu erkranken, wird in verschiedene Kategorien unterteilt. Hierbei wird das Serum des Empfängers und das des Spenders auf CMV-Antikörper, die Immunglobuline G (IgG) und M (IgM), untersucht. Dabei weist IgM auf ein akutes Infektionsgeschehen, CMV-IgG auf eine Viruslatenz hin. Die verschiedenen Risikokonstellationen sind in Tabelle Nr. 5 zusammengefasst. Es gibt insgesamt drei Risikokonstellationen: ein niedriges (low), ein mittleres (intermediate) und ein hohes (high) Risiko. Eine standardisierte Leitlinienempfehlung zur prophylaktischen Gabe antiviralen Therapie abhängig vom Risikostatus gibt es nicht. Klinikintern erhalten nach Lebertransplantation nur Patienten mit hohem Risiko eine Prophylaxe. Bei allen anderen Patienten wird gemäß präemptiver Strategie vorgegangen. Hierbei wird einmal pro Woche eine PCR-Untersuchung des Serums durchgeführt. Sobald sich Virusmaterial nachweisen lässt, wird eine antivirale Therapie begonnen. Diese wird dann fortgeführt, bis sich in zwei aufeinanderfolgenden PCR-Tests kein Virusmaterial mehr nachweisen lässt.

Spender	Empfänger	Abkürzung	Status
negativ	negativ	D-/R-	Niedriges Risiko
positiv	positiv	D+/R+	Mittleres Risiko
Negativ	positiv	D-/R+	Mittleres Risiko
Positiv	Negativ	D+/R-	Hohes Risiko

Tabelle Nr. 5: CMV-Infektionsrisiko abhängig vom CMV-IgG nach Lebertransplantation.

1.14. Ziel dieser Arbeit

In der vorliegenden Arbeit wurden die Daten zu CMV bei lebertransplantierten Patienten der Universitätsklinik Mainz im Zeitraum 2020-2021 retrospektiv analysiert. Zudem wurden die Ergebnisse einer Immunmonitoring Studie (Titel: „Untersuchung zur Immunreaktivität nach Organtransplantation“) ausgewertet. Hierfür wurde das Blut von Patienten präoperativ, und 3, 6 und 12 Monate nach Lebertransplantation abgenommen und mit dem ELISpot-Verfahren auf eine CMV-spezifische T-Zell Immunreaktion untersucht.

Die Arbeit untergliedert sich in 3 Fragestellungen:

- 1) Wie viele CMV-Reaktivierungen kommen im ersten Jahr nach Transplantation bei einer präemptiven Strategie vor?
- 2) Kann der durchgeführte ELISpot zur Risikostratifizierung einer CMV-Infektion/Reaktivierung und zur Optimierung der Immunsuppression beitragen?
- 3) Haben CMV-Infektionen einen Einfluss auf den Transplantationserfolg?

2. Methoden

2.1. Datenerhebung

Zur Erhebung der Patientendaten wurde auf das interne Klinikprogramm SAP der Universitätsmedizin Mainz zurückgegriffen. Insbesondere stationäre und ambulante Arztbriefe wurden hierfür ausgewertet. Der präoperative CMV-Status (IgG) der Patienten wurde in den Laborwerten gesucht. Der CMV-Status des Spenders wurde dem Spenderbericht von Eurotransplant entnommen. Jeder Transplantierte hat eine Datei mit den ihm zugeordneten Spenderdaten. Zur Untersuchung der CMV-Reaktivierungen wurde jeder CMV PCR-Test eines transplantierten Patienten ab dem Zeitpunkt der Transplantation bis zum Abschluss des ersten postoperativen Jahres untersucht.

Weiterhin wurden die Daten einer an der Universitätsmedizin Mainz durchgeführten Immunmonitoring-Studie (Titel: „Untersuchung zur Immunreaktivität nach Organtransplantation“) ausgewertet.

Alle Patientendaten wurden erfasst, in einer Excel Tabelle gesammelt und anschließend in eine Tabelle im Statistikprogramm SPSS übertragen. Zur Datenerfassung gehörte:

- I. Patientencharakteristika:
Pseudonym, Alter, Geburtstag, Geschlecht
- II. Transplantationsdaten:
Datum der Transplantation, Indikation zur Transplantation
- III. CMV -Daten:
Infektionen innerhalb des ersten Jahres nach Transplantation, Viruslast (grenzwertig, schwach, positiv, stark positiv), Empfänger CMV-IgG, Spender CMV-IgG, CMV-Risikokonstellation, CMV-Prophylaxe
- IV. Immunmonitoring Daten:
Erhobene Messdaten von IE-1 und pp65 präoperativ, nach 3, 6 und 12 Monaten
- V. Immunsuppression:
Tacrolimus, Cyclosporin, Urbason, Everolimus, Mycophenolat-mofetil, zum 3., 6. und 12. Monat und Dosierung, sowie die Tal-Spiegel im Serum nach 3, 6 und 12 Monaten

2.2. Statistische Analyse

Die gesammelten Daten wurden mit dem Statistikprogramm SPSS® der Firma IBM ausgewertet. Die Daten wurden deskriptiv statistisch analysiert und graphisch in Boxplots, Linien- und Streudiagrammen veranschaulicht. Metrische Daten wurden auf Normalverteilung mittels Shapiro Wilk Test getestet. Die Überlebensanalyse wurde in einer Kaplan Meier Kurve visualisiert und die Signifikanz mittels Log Rank ausgerechnet. Die Immunsuppression und die CMV-Infektionen wurden in Kreuztabellen zusammengeführt und auf einen Zusammenhang mittels Chi X^2 Test untersucht und das relative Risiko bestimmt.

Die ELISpot-Daten wurden in Boxplots und Liniendiagrammen veranschaulicht. Abhängig von der Normalverteilung der Variablen wurde die statistische Signifikanz mit dem Mann-Whitney-U-, Wilcoxon- oder T-Test für paarige Stichproben auf Signifikanz überprüft.

Der Einfluss der Immunsuppression auf die IE-1- und pp65-Spots wurde mit einem Streudiagramm dargestellt. Mögliche Korrelationen wurden mit der Spearman-Rangkorrelation untersucht. Für die vorliegende Arbeit wurde die statistische Signifikanz bei $<0,05$ angenommen.

2.3. Definitionen:

I. CMV-Infektion:

Eine positive CMV-PCR ab dem ersten Tag nach der Transplantation bis zu einem Jahr nach Transplantation wurde als CMV-Infektion definiert. Als Zeitpunkt der Infektion wurde der Tag der Blutentnahme für die CMV-PCR gewertet. Anhand klinikinterner Kategorien der Labormedizin für die Stärke der PCR wurde die Viruslast in negativ (kein Nachweis von Virusmaterial), grenzwertig, schwach positiv, positiv und stark positiv unterteilt.

II. CMV -Reaktivierung:

Eine CMV-Reaktivierung ist eine CMV-Infektion, die in mindestens zwei aufeinanderfolgenden PCR-Untersuchungen nachgewiesen werden kann. Sie betrifft nur Patienten mit einem mittleren (D+/R-, D-/R+) und hohen (D+/R-) Risiko. Im Rahmen der Reaktivierung ist eine antivirale Therapie erlaubt.

III. CMV -Neuinfektion:

Eine CMV-Infektion bei seronegativen Patienten mit niedrigem (D-/R-) Risiko wurde als CMV-Neuinfektion gewertet. Diese muss in mindestens zwei aufeinanderfolgenden PCR-Untersuchungen nachgewiesen werden. Im Rahmen der Neuinfektion ist eine antivirale Therapie erlaubt.

IV. Selbstlimitierende Infektion:

Eine Infektion wurde als selbstlimitierend gewertet, wenn in der ersten PCR ein positiver Virusnachweis, in der zweiten dann aber bereits ein negativer Virusnachweis erbracht wurde, ohne dass eine Therapie eingeleitet wurde. Sie kann bei allen Risikokonstellationen auftreten.

2.4. Patientenkollektiv

Die Daten aller Patienten, die im Zeitraum vom 01.01.2020 - 31.12.2021 eine Leber erhielten, wurden berücksichtigt. Zwei Patienten, die im Februar 2020 nach Transplantation verstorben sind, wurden in die Studie nicht miteingeschlossen. In der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 81 Patienten untersucht.

2.5 CMV-Antikörper Status

Im Rahmen der Analyse war die Erhebung des CMV-Status des Empfängers und Spenders notwendig. Der CMV-Status des Empfängers wurde im Rahmen der Blutentnahme bei der stationären Aufnahme des Empfängers vor der Transplantation festgestellt. Hierbei wurde das Serum des Antikörpers gegen CMV getestet. Ein positives IgM wurde als akute Infektion gewertet. War das CMV-IgG positiv, sprach das für eine durchgemachte Infektion und der CMV-Status des Empfängers wurde als positiv gewertet. Der CMV-IgG Status des Spenders wurde vor der Transplantation festgestellt und wurde im Spenderbericht mit weiteren medizinischen Daten von Eurotransplant angegeben. Gekennzeichnet war der CMV-Status durch die Abkürzung D (=Donor, engl. für Spender), der CMV-Status des Empfängers durch die Abkürzung R (=Recipient, engl. für Empfänger). Ein Pluszeichen (+) hinter dem R oder D bedeutete, dass der Empfänger oder Spender CMV-IgG positiv ist, ein Minuszeichen (-) wies entsprechend auf einen CMV-IgG-negativen Status hin.

2.6. ELISpot

Im Rahmen einer „Immunmonitoring“- Studie (Untersuchung zur Immunreaktivität nach Organtransplantation) an der Unimedizin Mainz wurden den lebertransplantierten Patienten vor und zu bestimmten Zeitabständen nach Transplantation 14 ml Blut entnommen und anschließend mittels ELISpot die CMV-spezifische T-Zell-Antwort getestet. Die Erlaubnis zur Durchführung der Studie wurde von der Ethikkommission durch das Ethikvotum 2019-14226 gestattet. Im Rahmen der stationären Aufnahme des Organempfängers vor der Transplantation wurden die Patienten über die zusätzliche Entnahme von 7,5 ml Blut für den ELISpot aufgeklärt und konnten freiwillig zustimmen oder ablehnen. Weitere ELISpot-Untersuchungen wurden bei den regulären Nachsorgeuntersuchungen 3, 6, 12 Monate nach Transplantation durchgeführt. Die ELISpot-Analysen wurden in den Laborräumen der Allgemein, -Viszeral, -und Transplantationschirurgie der Universitätsmedizin Mainz durchgeführt.

2.6.1 Verfahrensprinzip

Zur Durchführung des Tests wird eine mit einer PVDF (Polyvinylfluorid) Membran bedeckte Platte benötigt, die mit Antikörpern gegen Proteine beschichtet ist. Nach Stimulation von Zellen mit spezifischen Antigenen wird die Platte bei einer Temperatur von 37°C und einem CO₂-Gehalt von 5% für ca. 17-24h inkubiert.

Sobald die Effektorzellen nach Stimulation beginnen, Zytokine zu produzieren, werden diese an die Antikörper gebunden, die an die PVDF-Platte gekoppelt sind. Durch Hinzugabe eines weiteren spezifischen Antikörpers, der wiederum an alkalische Phosphatase gebunden ist, wird durch enzymatische Umwandlung an den Zytokin-Sekretionsstellen eine Färbungsreaktion aktiviert, woraufhin viele kleine Punkte, sogenannte Spots entstehen. Jeder Spot steht hierbei für eine antigenspezifische Effektorzelle. Die Zahl der Spots kann mit einem ELISpot-Reader festgestellt werden.

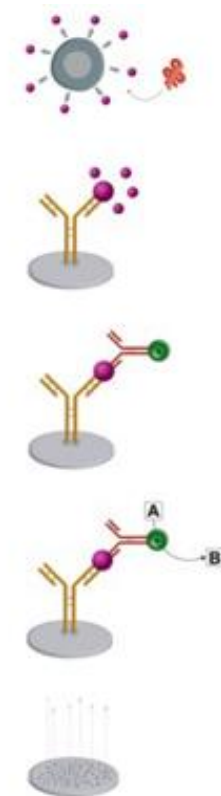


Abbildung Nr. 4: Ablauf des ELISpots: 2) Bindung des Ag an den Antikörper. Sekretion von IFN- γ (lila Punkte) 3) Bindung des AK und der AP. 4) Färbung der Spots

2.6.2. Versuchsdurchführung

Um die CMV-spezifische Immunreaktion auf Einzelzellniveau zu messen, wurde das **T-Track® CMV ELISpot-Testkit** der Firma Lophius Biosciences benutzt.

Die Durchführung des Tests dauerte insgesamt 3 Tage. Den teilnehmenden Patienten wurde zu den angegebenen Messpunkten (präoperativ, nach 3, 6 und 12 Monaten) 7,5ml Blut abgenommen. Das gewonnene Blut wurde dann mit 7,5ml einer PBS-Lösung verdünnt. Die Lösung wurde anschließend vorsichtig auf 15ml Ficoll, einem wasserlöslichen Saccharose-Epichlorhydrin-Copolymer, pipettiert und für 30min bei 880xg ohne Bremse zentrifugiert. Nach Abschluss der Zentrifugation waren die verschiedenen Sedimentschichten nun klar erkennbar (Abb. Nr. 5). Die PBMC-Schicht wurde abgenommen und in einem neuen Röhrchen mit PBS-Lösung auf 50ml aufgefüllt. Anschließend wurde die Lösung zweimal hintereinander für 10min zentrifugiert und der Überstand jeweils verworfen. Nach Abschluss der zweiten Zentrifugation wurde das PBMC-Zellisolat in sterilem AIM-V® Medium resuspendiert. Anschließend wurden die Zellen mit Trypanblau gefärbt und unter dem Mikroskop gezählt. Die Zellzahl wurde auf 2×10^6 PBMCs pro ml Medium eingestellt. Die gesamte Versuchsdurchführung erfolgte unter sterilen Bedingungen.

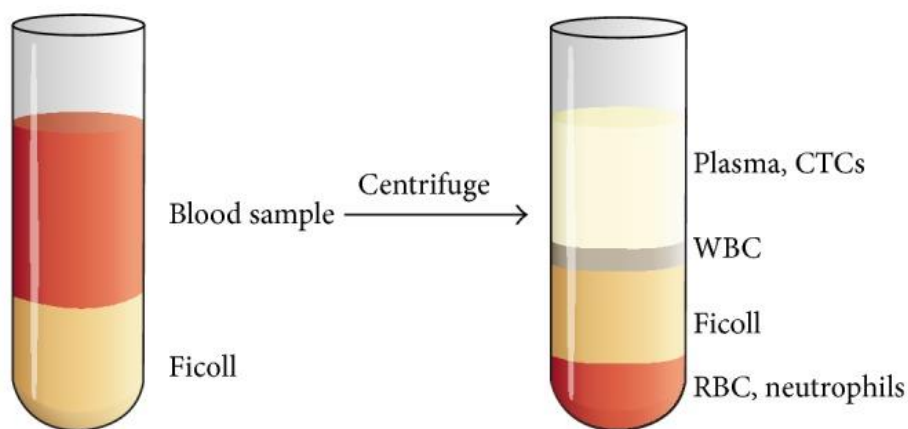


Abbildung Nr. 5: Beispielhafte Darstellung einer Ficoll-Dichtegradientenzentrifugation aus Wa Shi Low et. al. Benchtop Technologies for Circulating Tumor Cells Separation based on biophysical Properties BioMed Research international 2015

Die PDVF-beschichtete Platte aus dem Testkit war mit einem Anti-Interferon- γ -Antikörper beschichtet und in verschiedene Wells/Vertiefungen (A-H) unterteilt. Nach Zugabe von CMV-spezifischen Antigenen wie pp65 oder IE-1 bzw. PHA (als Positivkontrolle) und Medium (als Negativkontrolle) wurden zu jeder Vertiefung 2×10^5 PBMC hinzugegeben, außer in die Operatorkontrolle (s. Abbildung Nr. 6). Die Platte wurde für ca. 17-21 Stunden im Brutschrank bei 37°C und 5% CO₂ inkubiert.

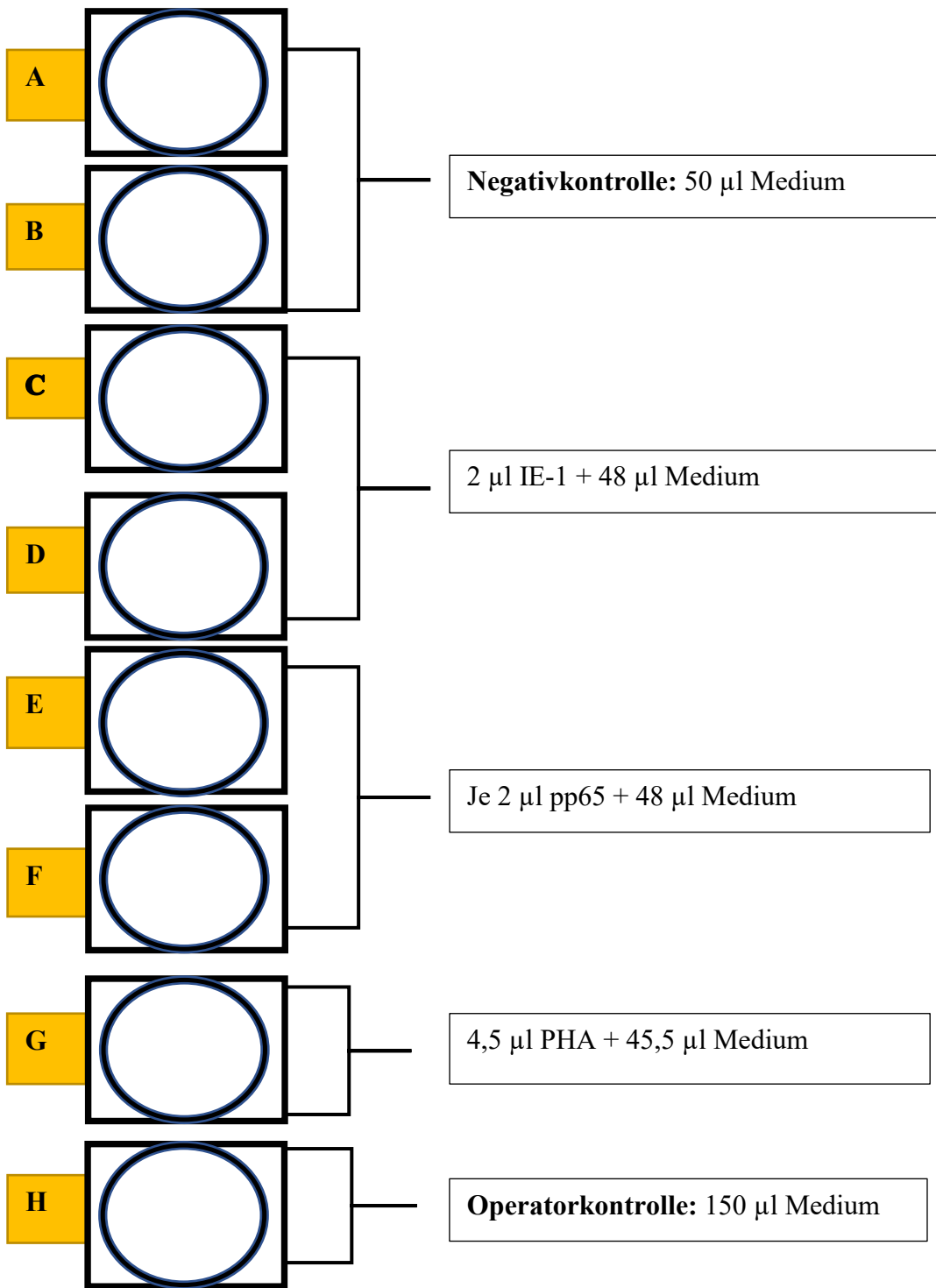


Abbildung Nr. 6: Versuchsanordnung des ELISpot: Links (Reihe A-H) sind die Vertiefungen der mit PDVF beschichteten Platte. In Vertiefung A, B wird jeweils nur das Medium gegeben. In C, D Medium+ IE1. In E, F Medium + pp65. In G Medium + PHA. In H nur das Medium. Anschließend wird in jede Vertiefung 2×10^5 PBMCs gegeben.

Anschließend wurde die Zellsuspension verworfen und 6-mal mit 200 µl Waschpuffer WB1 gewaschen. Dann wurde zur Detektion des sezernierten Interferon- γ ein monoklonaler Antikörper, der mit alkalischer Phosphatase markiert war, hinzugegeben. Die Teststreifen wurden zwei Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubiert. Nach dreimaligem Waschen mit Waschpuffer WB1 und anschließendem dreimaligen Waschen mit Waschpuffer WB2 wurde das Färbereagenz zugegeben und sechs Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert. Um die Färbereaktion zu stoppen, wurde dreimal mit Leitungswasser gewaschen. Nachdem die Teststreifen über Nacht getrocknet waren, gaben sich nun die Spots auf den Teststreifen zu erkennen, die mit einem ELISpot-Reader gezählt wurden.

2.6.3 Versuchsauswertung

Der Test galt als valide, wenn in der Negativkontrolle keine bis wenige Spots (< 10 pro 2×10^5 Zellen) entstanden. Die Anzahl der Spots, die durch Stimulation mit pp65- bzw. IE-1-Antigen entstanden sind, wurden als Immunantwort (Response) definiert. Wurden 0-9 Spots gezählt, wurde das als eine Non-Response (fehlende Immunantwort) auf das CMV-spezifische Antigen bzw. als negatives Testresultat interpretiert. Lag die Anzahl der Spots in mindestens einem der antigenspezifischen Vertiefungen (C, D; E, F) bei 10 Spots oder mehr, galt der Test als positiv. Die Spotanzahl wurde weiterhin gestaffelt: 10-49 Spots wurden als Weak Response (schwache Immunantwort) definiert. Bei mehr als 50 Spots wurde von einer Strong Response (starke Immunantwort) ausgegangen (Tab. Nr.7).

Spotanzahl	Definition
0-9 Spots	Non responder
10-49 Spots	Weak responder
>50 Spots	Strong responder

Tabelle Nr. 6: Definition der CMV spezifischen Immunantwort im ELISpot

2.6.4 Materialliste

Reagenzien und Kit

T-Track® CMV Kit
Pancoll Human (Dichte: 1,077 g/ml)
Dulbecco's Phosphate Buffered Saline
AIM-V®+AlbuMAX® (BSA) (1X)
Serum Free Medium
Trypanblau (0,5%)

Lophius Biosciences GmbH
PAN-Biotech GmbH
Sigma-Aldrich®
Gibco™

Biochrom KG

Zusätzliche Materialien

Blutentnahmeröhrchen:
S-Monovette Li-Heparin (7,5 ml)
Zentrifugen PP-Röhrchen (50ml), Cellstar®

Sarstedt AG & Co. KG
Greiner Bio-One GmbH

Pipetten:
Multipipette
Dispensertips (5 ml)
Kunststoffpipetten (10 ml, 25 ml)
Pipetten (10, 100, 1000 µl)
Pipettierhilfe accu-jet® pro

Eppendorf
Ritter Ritips®
Greiner Bio-One GmbH
Sartorius AG
Brand GmbH

Pipettenspitzen:
Standardtips (10, 100, 1000 µl)
Reaktionsgefäße (1,5 und 2 ml)
Neubauer Zählkammer

Sarstedt AG & Co. KG
Sarstedt AG & Co. KG
neoLab®

Mikrotiterplatten:
96-well (Rundboden)

Costar®

Geräte

Heizplatte
Kühlzentrifuge 5810 R
Sterile Werkbank Laminar Flow
CO₂-Inkubator
Inverses Forschungsmikroskop
Wilovert S
Vortexer Minishaker MS1
AID iSpot Reader System

MEDAX
Eppendorf
HERAsafe®
Nunc™
Helmut Hund GmbH

IKA
Autoimmune Diagnostica
GmbH

3. Resultate

3.1. Patientenkollektiv

Insgesamt wurden 81 von 83 Patienten, die zwischen Januar 2020 und Dezember 2021 einer Lebertransplantation unterzogen wurden, untersucht. Zwei Patienten, die Anfang 2020 verstorben sind, wurden nur in der Mortalitätsanalyse berücksichtigt. Hierunter waren 60,5% (n=49) männliche und 39,5% (n=32) weibliche Patienten. Der älteste Patient war 73 Jahre alt, der jüngste 28 Jahre alt. Das Durchschnittsalter lag bei 54,7 Jahren, am häufigsten wurden 52-Jährige (n=6) und 65-Jährige (n=6) transplantiert. 11 Patienten sind insgesamt nach Transplantation im Verlauf verstorben.

	Alter
Mittelwert	54,7 Jahre
Median	56 Jahre
Max	73 Jahre
Min	28 Jahre

Tabelle Nr.7: Altersverteilung im eigenen Patientenkollektiv

3.1.1. Mortalitätsanalyse

Im untersuchten Zeitraum sind von insgesamt 83 Patienten 11 innerhalb des ersten Jahres nach der Transplantation verstorben (Tab. 9) Zwei Patienten, die Anfang 2020 verstorben sind, wurden nur in der Mortalitätsanalyse und der CMV-Analyse berücksichtigt. Die häufigste Todesursache war das Multiorganversagen infolge einer Sepsis. Unter den Verstorbenen war die CMV-Risikokonstellation D+/R+ am häufigsten vertreten. Innerhalb des stationären Aufenthalts konnte bei fünf der Verstorbenen eine CMV-Reaktivierung festgestellt werden. Zwei Patienten wurden präoperativ in die ELISpot-Studie eingeschlossen, wegen ihres Versterbens konnten postoperativ aber keine ELISpots durchgeführt werden.

Datum LTX	Verstorben (Tage nach LTX)	Todesursache	CMV-Risiko	CMV Inf./Reakt.	Besonderheiten
2020	24	Leberversagen	D+/R+	-	Nicht in die vorliegende Arbeit eingeschlossen
2020	35	Respiratorische Insuffizienz	D-/R+	-	Nicht in die vorliegende Arbeit eingeschlossen
2020	73	Erloschene Hirnstammfunktion	D+/R-	ja	
2020	16	Sepsis	D+/R+	Ja	Selbstlimitierend
2020	97	Septisches MOF	D+/R+	ja	
2020	136	Sepsis	D+/R-	Nein	In ELISpot Studie eingeschlossen
2020	54	Septisches MOF	D-/R-	Ja	In ELISpot Studie eingeschlossen
2021	39	Septisches MOF	D-/R-	nein	
2021	88	MOF	D+/R-	nein	
2021	193	Apoplex	D+/R+	ja	
2021	42	MOF	D-/R-	nein	

Tabelle Nr. 8: Mortalitätsanalyse aller verstorbenen Patienten innerhalb des ersten Jahres nach Lebertransplantation.

3.1.2. Indikation

Die Indikation zur Lebertransplantation wurde in 81 Fällen gestellt. Indikationen zur Transplantation waren Autoimmunerkrankungen (n=8), hepatozelluläres Karzinom in Leberzirrhose (21x), äthyltoxische- oder nutritiv-toxische Leberzirrhose (19x), viral verursachte Leberzirrhose (5x), akutes Leberversagen (14x) oder sonstige Gründe (14x) (Tab.10).

Unter Autoimmunerkrankungen sind Autoimmunhepatitis, primär sklerosierende Cholangitis und primär biliäre Cholangitis subsumiert. Unter sonstige Indikationen sind seltene Erkrankung wie das Budd-Chiari Syndrom, oder die autosomal polyzystische Leber und Nierenerkrankung zusammengefasst. Der durchschnittliche labMELD betrug 23,11 der höchste lag bei 40, der niedrigste bei sechs (Tab.11).

Indikation zur Transplantation	Patienten (n)	%
Autoimmunerkrankung	8	9,9
Leberzirrhose	45	55,5
Äthyltoxische/ nutritiv toxische Leberzirrhose	19	23,9
Viral verursachte Leberzirrhose	5	6,2
Hepatozelluläres Karzinom bei Leberzirrhose	21	25,9
Akutes Leberversagen	14	17,3
Sonstige	14	17,3
Total:	81	100

Tabelle Nr. 9: Indikationen zur Lebertransplantation in Jahren 2020-2022

	Mittelwert	Median	Min	Max	SD
labMELD	23,11	23	6	40	10,5

Tabelle Nr. 10: Deskriptive Analyse des labMELD

3.1.3. Indikation zur Re-Lebertransplantation

Die Indikation zur Re-Lebertransplantation wurde insgesamt sechsmal gestellt.

Gründe hierfür waren: Ischämische Gallengangsverletzung (ITBL) (n=2), Leberarterienthrombose, schwere Transplantatdysfunktion (n=2) und Zirrhose der Transplantatleber (Abb. Nr. 7).

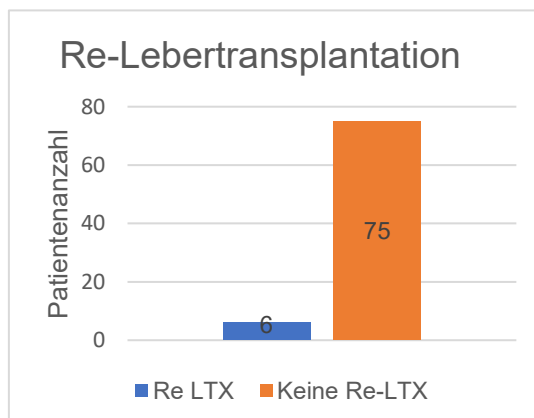


Abbildung Nr. 7: Re-LTX im eigenen Patientenkollektiv 2020-2021

3.1.4. CMV-Risikokonstellationen

Insgesamt konnte von allen Empfängern und Spendern der CMV-Status ermittelt werden. 31/81 (37,0%) Patienten hatten vor der Transplantation einen seronegativen CMV-Status. 49/81 (60,5%) waren vor der Transplantation seropositiv. Von den 81 Organspendern waren 49 (60,5%) seropositiv, 32/81(39,5%) negativ. 14 (17,3%) Patienten hatten ein niedriges Risiko (D-/R-), 48 (59,25%) Patienten ein mittleres Risiko (D+/R+, D-/R+) und 19 (23,46%) Patienten ein hohes Risiko (D+/R-) an einer CMV-Infektion zu erkranken (Tab.12).

Risikokonstellation n (%)		Anzahl
Low (D-/R-)		14 (17,3)
Intermediate	D+/R+	31(38,3)
	D-/R+	18 (22,2)
High (D+/R-)		18 (22,2)
Gesamt		81 (100)

Tabelle Nr. 11: Risikokonstellationen in der Patientenkohorte

3.1.5. CMV-Risiko und Prophylaxe

Die Vergabe der antiviralen Prophylaxe abhängig von der Risikokonstellation wurde untersucht. Zur Prophylaxe wurde entweder Valganciclovir oral oder Ganciclovir intravenös verabreicht. In der Gruppe mit niedrigem Risiko hat kein Patient eine Prophylaxe erhalten. In der Patientengruppe mit mittlerem Risiko haben 46/49 (56,8%) Patienten keine Prophylaxe erhalten, 3/49 (3,7%) der Patienten haben eine Prophylaxe erhalten.

In der Hochrisikogruppe haben 17 (21%) von 18 (22,2%) Patienten eine Prophylaxe erhalten. Einer von 18 Patienten hat trotz Hochrisikokonstellation keine Prophylaxe erhalten.

Risikokonstellation n (%)	Prophylaxe erhalten (Ja/Nein)		Gesamt
	Ja	Nein	
Low (D-/R-)	0	14 (17,3)	14 (17,3)
Intermediate (D+/R+, D-/R+)	3 (3,7)	46 (56,8)	49 (60,5)
High (D+/R-)	17 (21)	1 (1,2)	18 (22,2)
Gesamt	20 (24,7)	61 (75,3)	81 (100)

Tabelle Nr.12: Prophylaxe und Risikokonstellationen

3.1.6 Immunsuppression

Die Daten für die Immunsuppression wurden 3, 6 oder 12 Monate nach LTX untersucht. Die meisten Patienten erhielten Tacrolimus in Kombination mit einem weiteren Medikament. Die Immunsuppression der Verstorbenen wurde nicht angegeben (Tab. 14,15).

Monat:	Tac	CyA	Urb	Eve	MMF
Entlassung	57	14	66	10	13
3. Monat	59	13	1	12	21
6. Monat	58	14	0	15	20
12. Monat	59	12	1	12	23

Tabelle Nr. 13: Patientenzahl und die jeweilige Immunsuppression (Tacrolimus, Cyclosporin A, Urbason, Everolimus, Mycophenolat mofetil) bei Entlassung, nach 3,6 und 12 Monaten. Daten von 10 verstorbenen Patienten wurden nicht berücksichtigt

Schema, n (%)	Bei Entlassung	Monat 3	Monat 6	Monat 12
CNI	3 (4,2)	23 (32)	35 (48,5)	30 (41,6)
CNI+ Steroid	44 (61,1)	17 (23,6)	4 (5,6)	3 (4,2)
CNI+ MMF	1 (1,4)	9 (12,5)	11 (15,3)	16 (22,2)
CNI+ Steroid+ MMF	13 (18)	11 (15,3)	8 (11,1)	9 (12,5)
CNI+ Everolimus +Steroid	8 (11,1)	6 (8,3)	4 (5,6)	2 (2,8)
CNI+ Everolimus	2 (2,8)	5 (6,9)	9 (12,5)	12 (16,7)
Sonstige	1 (1,4)	1 (1,4)	1 (1,4)	0
Gesamt	72 (100)	72 (100)	72 (100)	72 (100)

Tabelle Nr. 14: Kombinationen der Immunsuppression bei Entlassung, nach 3,6 und 12 Monaten

3.2. CMV-Infektionen

3.2.1 Positiver Virusnachweis innerhalb des ersten Jahres nach LTX

Bei insgesamt 35 (43,4%) Patienten von 81 konnte im ersten Jahr nach Lebertransplantation in mindestens einer PCR CMV-Virusmaterial nachgewiesen werden (Tab.16). 15/35 (18,5%) Patienten wurden in einer PCR positiv getestet (selbstlimitierende Infektion). Bei 19/35 (24,7%) seropositiven Patienten konnte in mehreren aufeinanderfolgenden PCRs CMV-Viruslast nachgewiesen werden (CMV-Reaktivierung). Eine CMV-Neuinfektion wurde in einem Fall beobachtet. Eine Endorgan-CMV-Erkrankung oder ein CMV-Syndrom wurde nicht festgestellt.

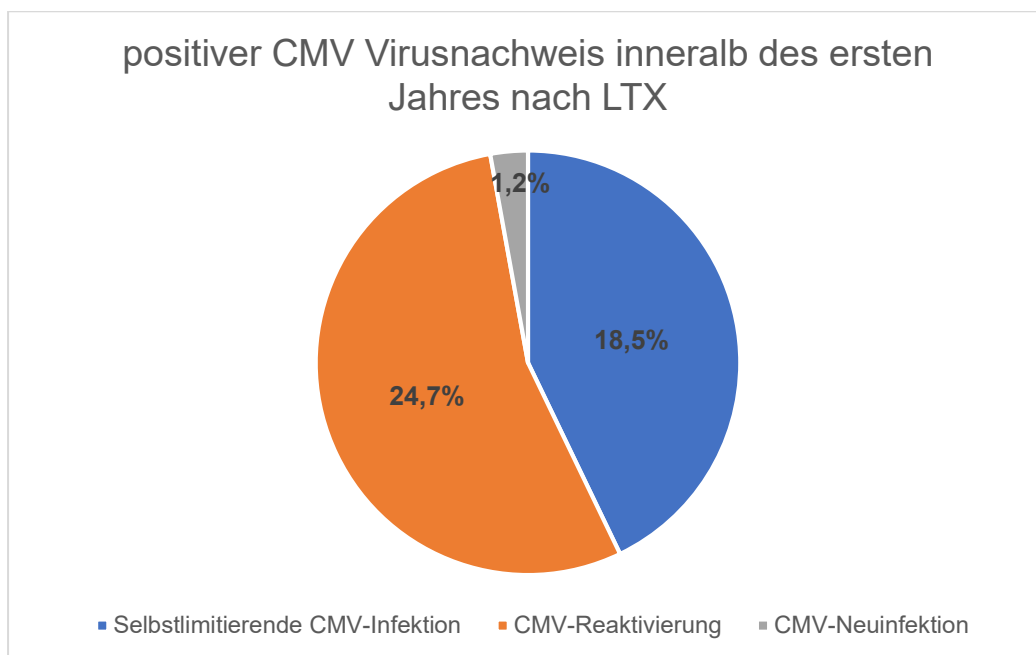


Abbildung Nr. 8: Nachweis von CMV-Virusmaterial im Serum mittels PCR innerhalb des ersten Jahres nach Lebertransplantation

3.2.2. CMV- Infektionen im zeitlichen Verlauf

Bei insgesamt 20/81 Patienten hat mindestens eine manifeste CMV-Reaktivierung (selbstlimitierende Infektionen ausgeschlossen) oder Neuinfektion innerhalb des Untersuchungszeitraum stattgefunden (Abb. Nr. 8). Bei manchen Patienten kam es im Verlauf zu mehrfachen Infektionen bzw. Reaktivierungen. Innerhalb der ersten 3 Monate nach Lebertransplantation gab es 18 (22,2%) Infektionen. Innerhalb des 3. bis zum 6. Monat gab es 4 (4,9%) und im Zeitraum 6. bis 12. Monat nur noch 2 Infektionen (2,5%).

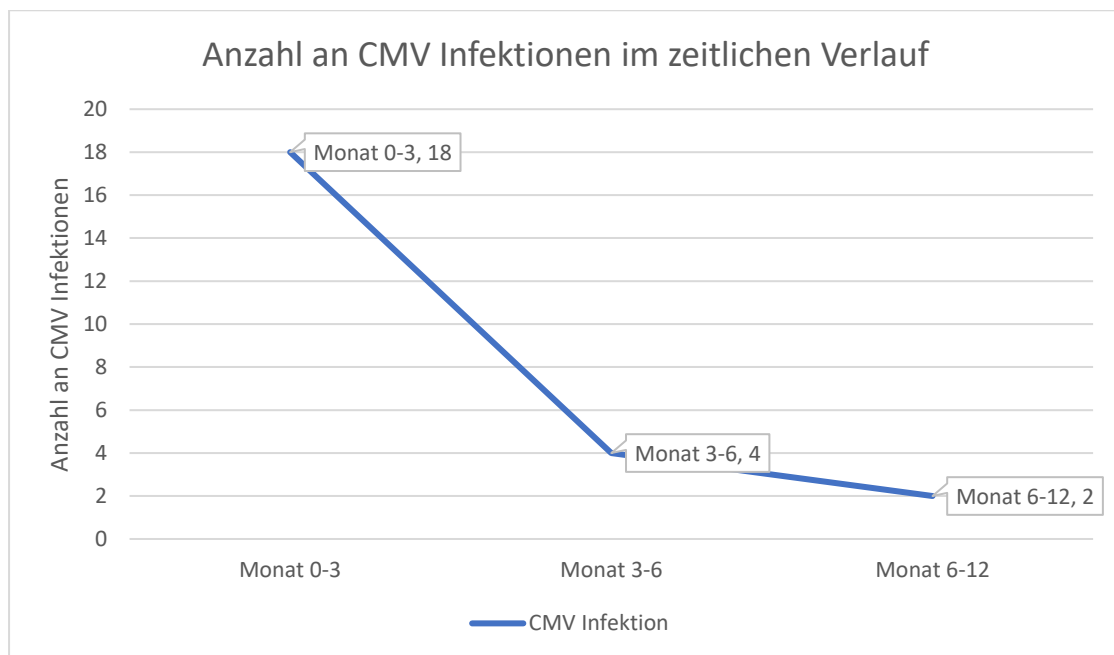


Abbildung Nr. 9: Anzahl der CMV-Infektionen innerhalb des ersten Jahres nach LTX. Selbstlimitierende Infektionen wurden ausgeschlossen. In den ersten 3 Monaten wurden insgesamt 18 CMV-Infektionen gezählt. Zwischen Monat 3-6 wurden insgesamt 4, zwischen Monat 6-12 noch 2 CMV-Infektionen festgestellt.

3.2.3. CMV-Reaktivierung/ Neuinfektion und Risikogruppen:

Die CMV-Reaktivierungen/CMV-Neuinfektionen wurden abhängig von der Risikokonstellation untersucht. Selbstlimitierende Infektionen wurden nicht berücksichtigt. Insgesamt hatten sechs (7,4%) von 18 Patienten in der High Risk-Gruppe eine CMV-Reaktivierung. Von 49 (60,5%) Patienten mit mittlerem Risiko erkrankten 14 (17,3%) an CMV (Tab.17). Hiervon erkrankten 10/49 (20,4%) mit positivem Spender und vier (8,2%) mit negativem Spender. Ein Patient (1,2%) mit niedrigem Risiko erlitt eine CMV-Neuinfektion (Tab.18).

Risikokonstellation n, (%)	CMV-Infektionen nach LTX		Gesamt
	Ja	Nein	
Low (D-/R-)	1 (1,2)	13 (16,0)	14 (17,3)
Intermediate (D+/R-, D-/R+)	14 (17,3)	35 (43,2)	49 (60,5)
High (D+/R-)	6 (7,4)	12 (14,8)	18 (22,2)
Gesamt	20 (25,9)	61 (74,1)	81 (100)

Tabelle Nr. 15: CMV-Reaktivierung/Neuinfektion in Bezug auf die Risikogruppe

Risikokonstellation n, (%)		CMV-Infektion nach LTX		Gesamt
		Ja	nein	
Intermediate Risk	D+	10 (20,4)	21 (42,9)	31 (63,3)
	D-	4 (8,2)	14 (28,6)	18 (36,7)
Gesamt		14 (28,6)	35 (71,4)	49 (100)

Tabelle Nr. 16: CMV-Infektionen innerhalb der Patientengruppe mit mittlerem Risiko

3.2.4. CMV und Überleben

Eine Überlebensanalyse nach Lebertransplantation bezüglich CMV-Reaktivierung/Neuinfektionen innerhalb des stationären Aufenthalts nach Lebertransplantation wurde durchgeführt (Abb. Nr. 9). Insgesamt wurden 79/81 Patienten analysiert, 20/81 hatten eine CMV-Infektion, davon 10/35 innerhalb des stationären Aufenthalts. In der Patientengruppe mit CMV-Infektion zeigte sich ein statistisch signifikant reduziertes Überleben ($p=0,006$).

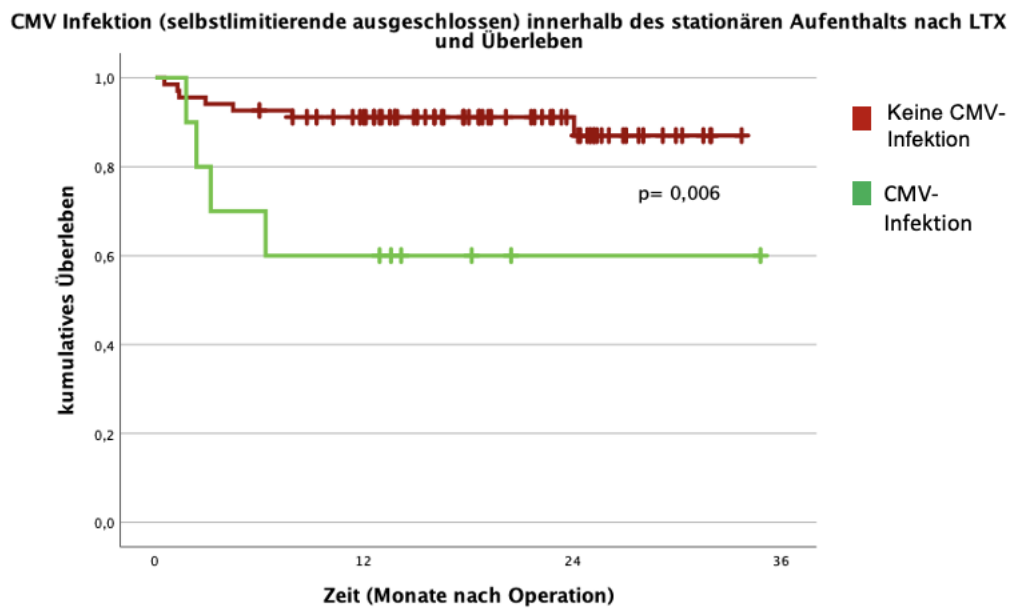


Abbildung Nr. 10: Überlebensanalyse von Patienten mit und ohne CMV-Infektion innerhalb des stationären Aufenthalts nach Lebertransplantation.

3.2.5. CMV und Krankenhausverweildauer

Der Zusammenhang zwischen CMV-Infektionen und Krankenhausverweildauer wurden ausgewertet. Bei einer Patientin konnten die Daten zum Zeitpunkt der Datenerhebung nicht erfasst werden, 80/81 Patienten wurden ausgewertet. 10/80 (12,5%) Patienten zeigten während ihres (ersten) Krankenhausaufenthaltes nach der Transplantation eine CMV-Reaktivierung. 70/80 (87,5%) Patienten zeigten keine CMV-Reaktivierung. Von den Patienten mit CMV-Reaktivierung blieben 3 Patienten <50 Tage und 7 Patienten >50 Tage. Von den 70 Patienten ohne Reaktivierung blieben 69 Patienten weniger als 50 Tage und 11 länger als 50 Tage im Krankenhaus. Die Daten hinsichtlich der Krankenhausverweildauer sind normalverteilt (SW: 0,154). Der Unterschied in der Krankenhausverweildauer zwischen Patienten mit und ohne CMV- Reaktivierung war statistisch signifikant (t-test, $p < 0,001$).

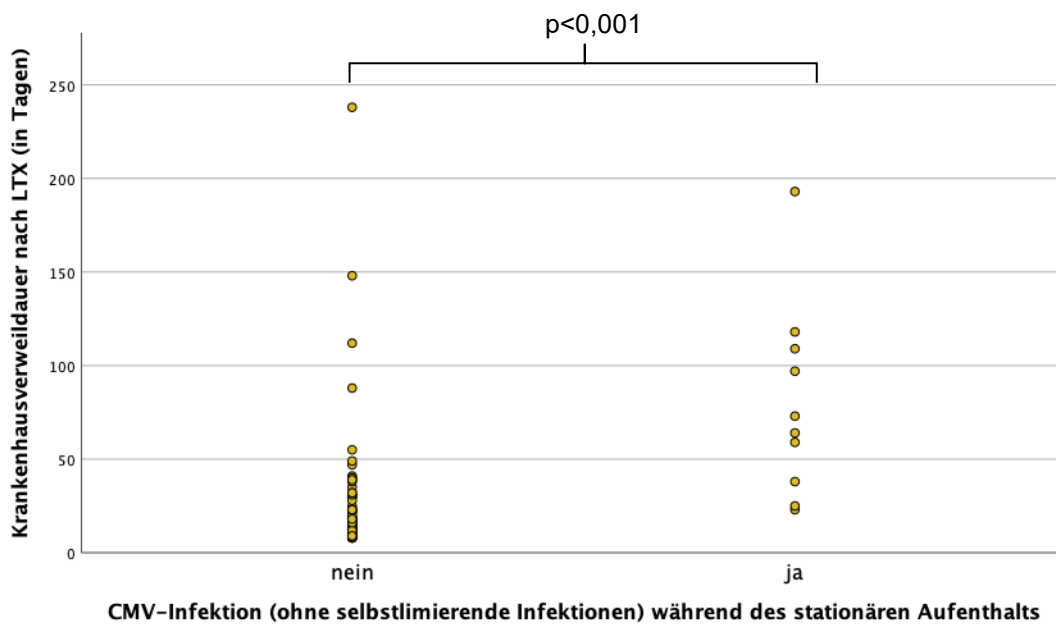


Abbildung Nr. 11: Streudiagramm der Patienten mit ($n=10$) und ohne CMV-Infektion ($n=70$) während des postoperativen stationären Aufenthaltes und der Krankenhausverweildauer

3.2.6. CMV und Alter

CMV und Alter wurden analysiert und ausgewertet. Patienten mit CMV-Infektion waren im Durchschnitt 3,7 Jahre älter als Patienten ohne CMV-Reaktivierung (56 vs. 53,1 Jahre). Der Median lag bei Patienten mit CMV-Infektion bei 57, bei Patienten ohne CMV-Infektion bei 56 Jahren. Der älteste Patient mit Reaktivierung war 73 Jahre, der jüngste war 38 Jahre. Die Daten hinsichtlich des Alters sind normalverteilt (SPW 0,186). Statistisch signifikant war der Unterschied nicht (t-test, $p=0,89$).

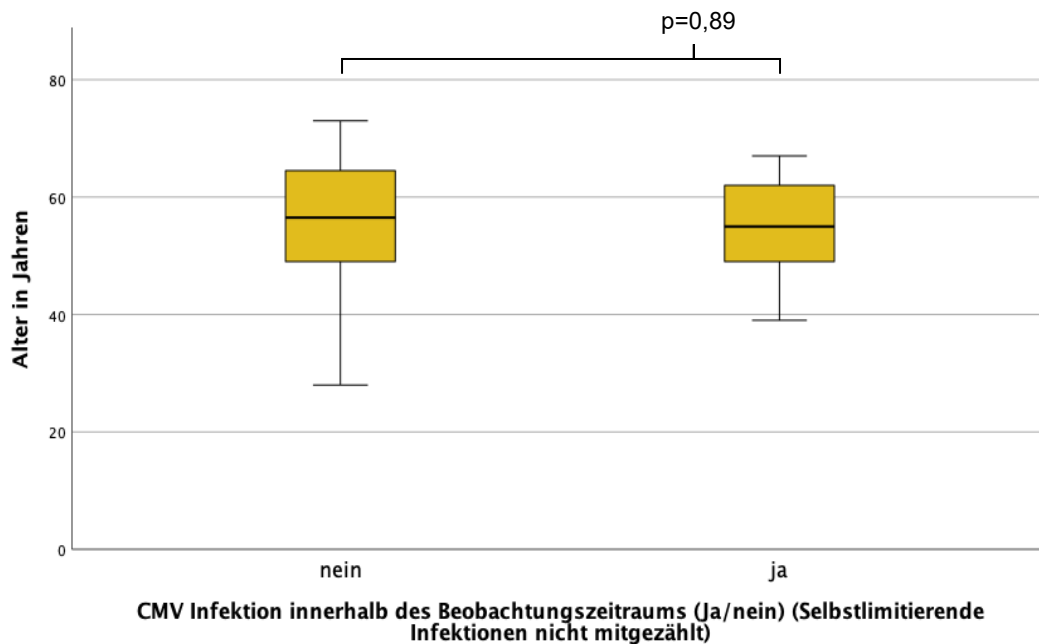


Abbildung Nr. 12: Boxplot: Alter und CMV-Infektion. Links: Patienten ohne CMV-Infektion. Rechts: Patienten mit CMV-Infektion

3.2.7. CMV und Immunsuppression

3.2.7.1. Immunsuppression und Häufigkeit von CMV-Infektionen innerhalb der ersten 3 Monate nach Lebertransplantation

Die einzelnen Immunsuppressiva bei Entlassung und die CMV-Infektionen innerhalb der ersten 3 Monate nach Transplantation wurden in einer Kreuztabelle dargestellt. Ein Zusammenhang der Variablen wurde mittels Chi X^2 -Test ermittelt. Das relative Risiko und die statistische Signifikanz wurden für jedes Medikament dargestellt. Insgesamt zeigte sich kein Zusammenhang zwischen den immunsuppressiven Medikamenten und der Häufigkeit von CMV-Infektionen. Ein statistisch signifikantes relatives Risiko konnte nicht aufgezeigt werden. Für Urbason konnte das relative Risiko aufgrund fehlender Patienten in der Gruppe mit CMV-Infektion ohne Urbason nicht berechnet werden.

		CMV-Monat 0-3		Chi X^2	p	RR	p
		ja	nein				
Tac bei Entlassung	Erhalten	10	47	0,863	0,352	0,61	0,3398
	Nicht erhalten	4	10				
CyA bei Entlassung	Erhalten	4	10	0,863	0,353	1,62	0,339
	Nicht erhalten	10	47				
Eve bei Entlassung	Erhalten	1	9	0,694	0,4	0,46	0,44
	Nicht erhalten	13	48				
Urbason bei Entlassung	erhalten	14	52	1,321	0,25	-	-
	Nicht erhalten	0	5				
MMF bei Entlassung	Erhalten	1	12	1,454	0,228	0,3432	0,2793
	Nicht erhalten	13	45				

Tabelle Nr. 17: Immunsuppression und CMV-Infektion bei Entlassung. Statistische Auswertung mittels Chi X^2 Test. Relatives Risiko (RR) und statistische Signifikanz.

3.2.7.2. Immunsuppression und Häufigkeit von CMV-Infektionen zwischen dem 3. und dem 6. Monat nach Lebertransplantation

Die Immunsuppression bis zum 3. Monat und CMV-Infektionen ab dem 3. Monat wurden in einer Kreuztabelle dargestellt. Der Chi X²-Test zeigte keinen statistisch signifikanten Zusammenhang der einzelnen Medikamente und der Häufigkeit von CMV-Infektionen zwischen dem 3. und 6. Monat. Ein signifikantes relatives Risiko konnte für kein Medikament gezeigt werden.

		CMV Infektion Monat 3-6		Chi X ²	p	RR	p
		ja	nein				
Tac 3.Monat	Erhalten	2	57	2,921	0,087	0,22	0,11
	Nicht erhalten	2	11				
CyA 3.Monat	Erhalten	2	11	2,846	0,092	4,46	0,116
	Nicht erhalten	2	56				
Eve 3. Monat	Erhalten	1	11	0,198	0,656	1,63	0,065
	Nicht erhalten	3	56				
Urbason 3. Monat	erhalten	2	33	0,03	0,954	1,05	0,954
	Nicht erhalten	2	35				
MMF 3. Monat	Erhalten	1	20	0,043	0,863	0,7937	0,837
	Nicht erhalten	3	47				

Tabelle Nr. 18: Immunsuppression und CMV-Infektion zwischen dem 3. und 6. Monat. Statistische Auswertung mittels Chi X² Test. Relatives Risiko (RR) und statistische Signifikanz.

3.2.8. labMELD und CMV-Infektionen

3.2.8.1. CMV (ohne selbstlimitierende Infektionen) und labMELD

Ein Zusammenhang zwischen labMELD und der Häufigkeit von CMV-Infektionen wurde untersucht. Patienten mit CMV-Infektion (ohne selbstlimitierende) (n=21) hatten im Durchschnitt einen labMELD von 21,68, Patienten ohne CMV-Infektionen (n=21) einen durchschnittlichen labMELD von 23,55. Die Daten sind nicht normalverteilt (Shapiro-Wilk-Test $p=0,024$), der Unterschied war nicht statistisch signifikant (Mann-Whitney-U, $p=0,53$) (Tab 23).

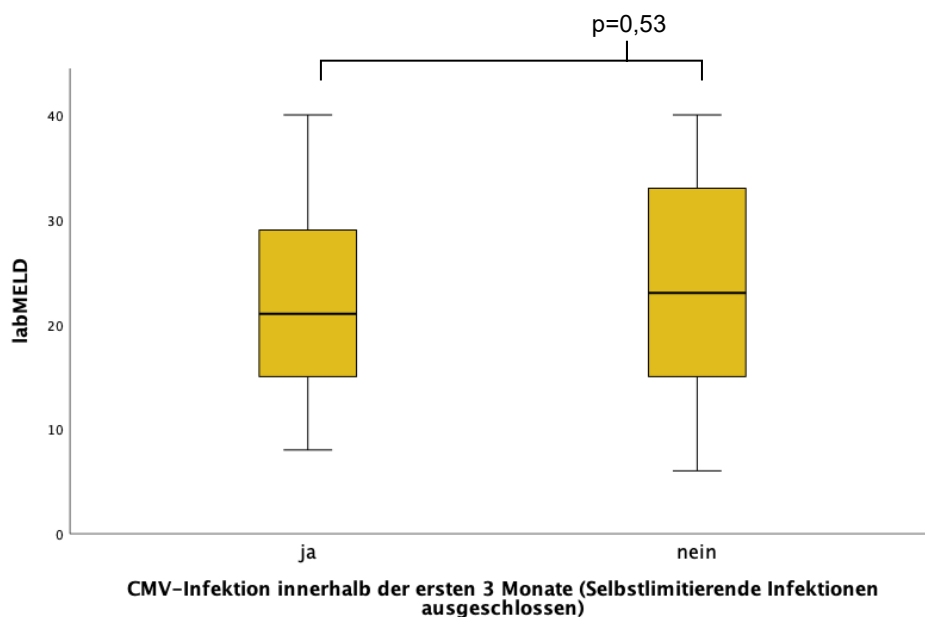


Abbildung Nr. 13: CMV-Infektionen innerhalb der ersten 3 Monate und labMELD

	labMELD				SD
	Mean	Median	Min	Max	
Alle Patienten(n=81)	23,11	23	6	40	10,5
CMV-Infektion (n=21)	23,95	26	8	40	10,717
Keine CMV-Infektion (n=60)	22,8	23	6	40	10,453

Tabelle Nr. 19: deskriptive Analyse des labMELD bei Patienten mit und ohne CMV-Infektion

3.2.8.2. CMV und labMELD bei high risk (D+/R-) (selbstlimitierende Infektionen ausgeschlossen)

High Risk Patienten (D+/R-) mit CMV-Infektion (n=6) hatten einen niedrigeren durchschnittlichen labMELD (Mittelwert: 20,25, Median: 18,5) als Patienten ohne CMV-Infektion (n=12) (Mittelwert: 23,95, Median: 25). Die Daten sind nicht normalverteilt (Shapiro-Wilk 0,02). Der Unterschied war nicht statistisch signifikant (Mann-Whitney-U, $p=0,815$).

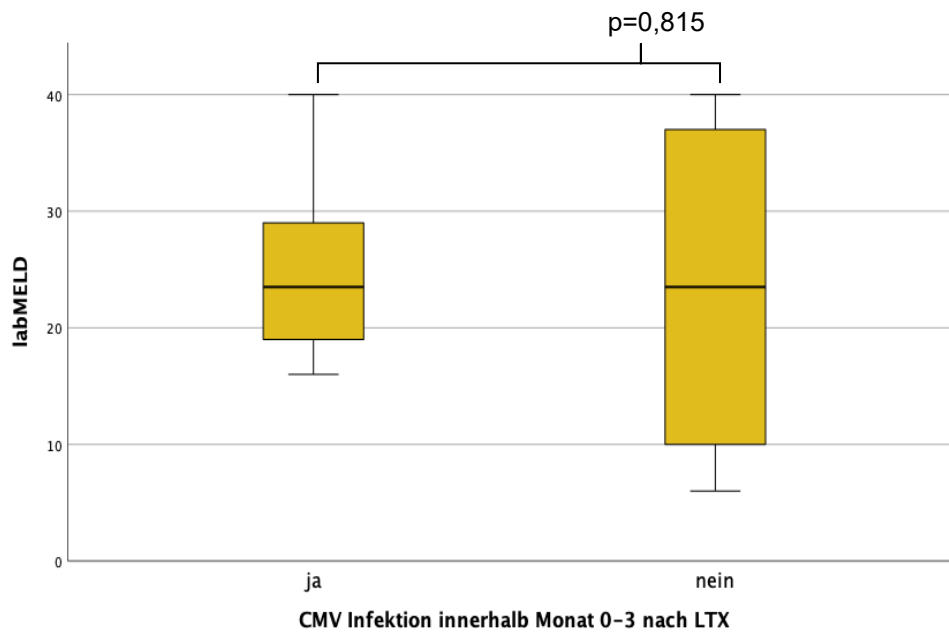


Abbildung Nr. 14: CMV-Infektion und labMELD bei Hochrisikopatienten Patienten

3.2.8.3. CMV und labMELD bei intermediate risk (D+/R+, D-/R+) (selbstlimitierende Infektionen ausgeschlossen)

12/49 (24,4%) Patienten mit mittlerem Risiko hatten eine CMV-Infektion mit einem durchschnittlichen labMELD von 20,25 innerhalb der ersten 3 Monate. Der labMELD der 37 (75,5%) Patienten ohne CMV-Infektion lag bei durchschnittlich 23,95. Der Unterschied war statistisch nicht signifikant (Shapiro-Wilk $p=0,02$, Mann-Whitney-U-Test, $p=0,334$).

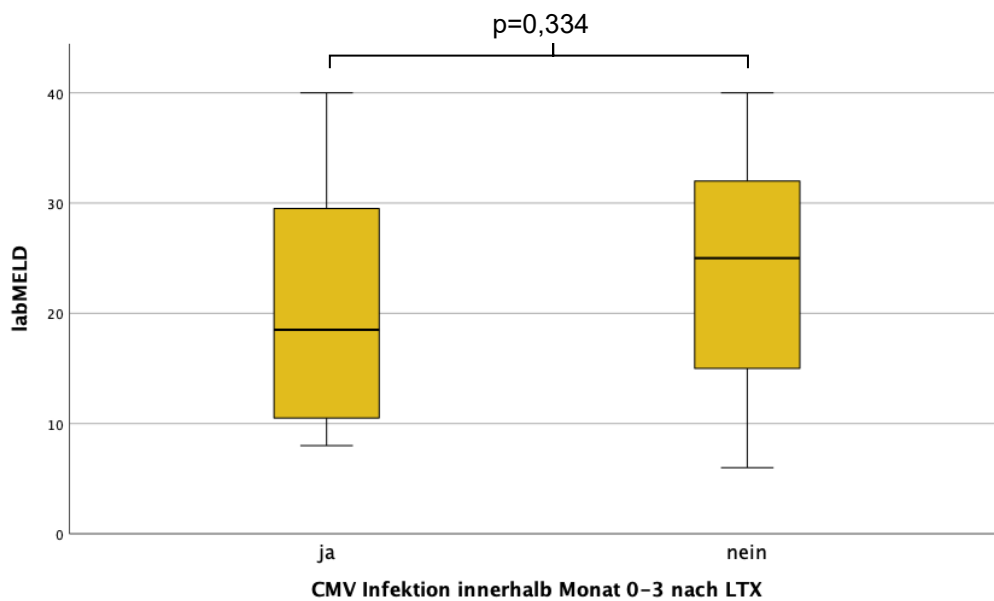


Abbildung Nr. 15: CMV-Infektion und labMELD bei intermediate Risk Patienten

3.3. ELISpot Daten

39/81 (48,1%) Patienten wurden in die Immunmonitoring-Studie eingeschlossen. Den eingeschlossenen Patienten wurde präoperativ und 3, 6 und 12 Monate nach Transplantation 7,5ml Blut entnommen und die Immunreaktivität mit dem ELISpot-Verfahren getestet. 17 Patienten wurden präoperativ getestet, hiervon waren fünf CMV-IgG-negativ und 12 CMV-IgG-positiv. Eine Validierung des Tests wurde durchgeführt, keiner der seronegativen Patienten zeigte präoperativ Spots (Abb. Nr. 17). Der Unterschied zwischen seronegativen und seropositiven Empfängern war für pp65 signifikant (Mann-Whitney-U, $p < 0,05$). Für IE-1 zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied (Mann-Whitney-U, $p = 0,09$). Bis auf die pp65-Spotzahl nach einem Jahr sind die Daten nicht normalverteilt (Tab. 21 und 22).

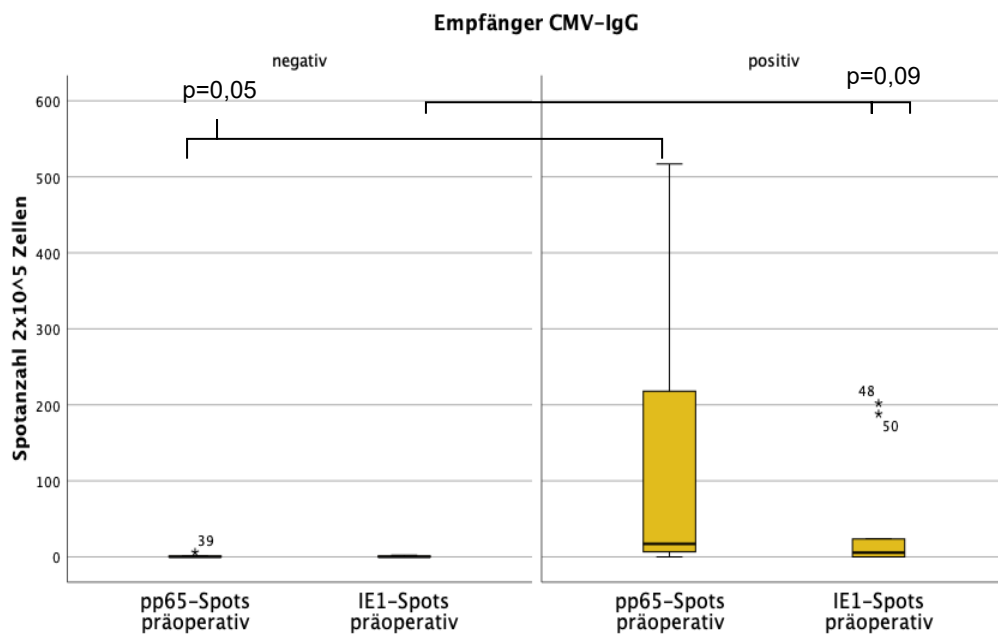


Abbildung Nr. 16: CMV-IgG Status und Spotanzahl vor Transplantation. Links: Patienten mit negativem CMV-IgG vor Transplantation. Rechts: Patienten mit positivem CMV-IgG vor Transplantation.

	IE1-Spots präoperativ	IE1-Spots 3. Monat	IE1-Spots 6. Monat	IE1-Spots 1 Jahr
n	17	0	517	90
Shapiro-Wilk-Test	26	0	822	147,04

Tabelle Nr. 20: Testung der IE-1-Daten auf Normalverteilung mit dem Shapiro-Wilk-Test

	pp65-Spots präoperativ	pp65-Spots 3.Monat	pp65-Spots 6. Monat	pp65-Spots 1 Jahr
n	17	26	28	20
Shapiro-Wilk-Test	0,028	0,013	0,002	0,252

Tabelle Nr. 21: Testung der pp65-Daten auf Normalverteilung mit dem Shapiro-Wilk-Test

3.3.1. ELISpot Response

Die Spotanzahl wurde in verschiedene Kategorien (Response) unterteilt und gestaffelt. Es wurden alle durchgeführten ELISpots Tests zusammengefasst und die Response Rate ermittelt. In der Kategorie „Non Responder“ (0-9 Spots) wurden 32/92 (35%) ELISpots erfasst. 43/92 (47%) ELISpots waren Strong Responder und hatten mehr als 50 Spots. Als Weak Responder konnten 17/92 (18%) identifiziert werden.

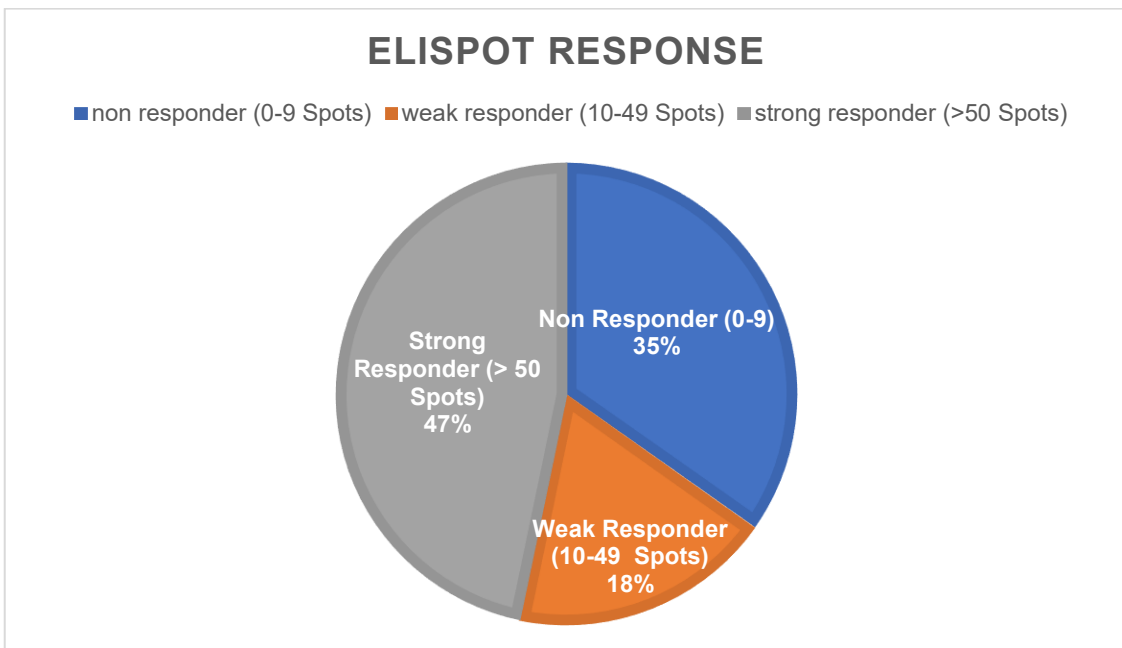


Abbildung Nr. 16: ELISpot Response, Non-Responder 35% (blau), Weak Responder 18% (orange), Strong Responder (grau)

3.3.2. ELISpots im zeitlichen Verlauf

3.3.2.1 Verlauf der pp65-Spots bei seropositiven Patienten -Spots

Alle gemessenen pp65-Spots wurden in einem Liniendiagramm graphisch dargestellt. Die mediane Spotanzahl stieg von präoperativ 17 Spots auf 65 Spots im 3. Monat (Wilcoxon-Test, $p=0,003$). Anschließend fiel die mediane Spotanzahl im 6. Monat nach Transplantation auf 29,5 Spots ab (Wilcoxon, $p=0,009$). Nach einem Jahr stieg die mediane Spotanzahl 109,5 an ($p=0,138$).

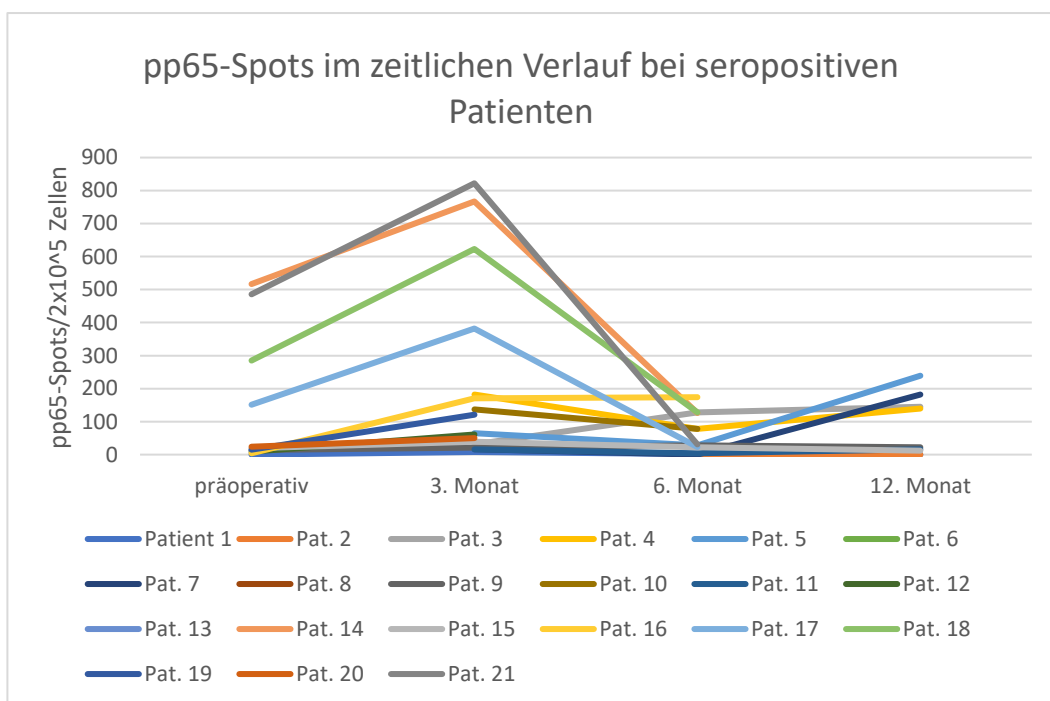


Abbildung Nr. 18: Graphische Darstellung der pp65 Spotanzahl im zeitlichen Verlauf bei seropositiven Patienten (präoperativ, nach 3,6,12 Monaten). Die Daten sind pseudonymisiert

	n	Min	Max	Mittelwert	Median	SA
präoperativ	12	0	517	127	17	171
3. Monat	19	0	822	192,2	65	235,3
6. Monat	16	0	174	58,4	29,5	73,9
12.Monat	12	0	282	108,4	109,5	139,8

Tabelle Nr. 22: deskriptive Analyse der pp65-Spots im zeitlichen Verlauf bei seropositiven Patienten (präoperativ, nach 3,6,12 Monaten)

3.3.2.2. Verlauf der IE-1-Spots bei seropositiven Patienten

Alle IE-1-Spots von seropositiven wurden in einem Liniendiagramm graphisch dargestellt. Die mediane Spotanzahl stieg von präoperativ 5,5 auf 16 zum 3. Monat an (Wilcoxon Test, $p=0,013$). Anschließend fiel sie zum 6. Monat auf 8 Spots im Median ($p=0,116$ und nach einem Jahr auf 7 Spots ($p=0,674$).

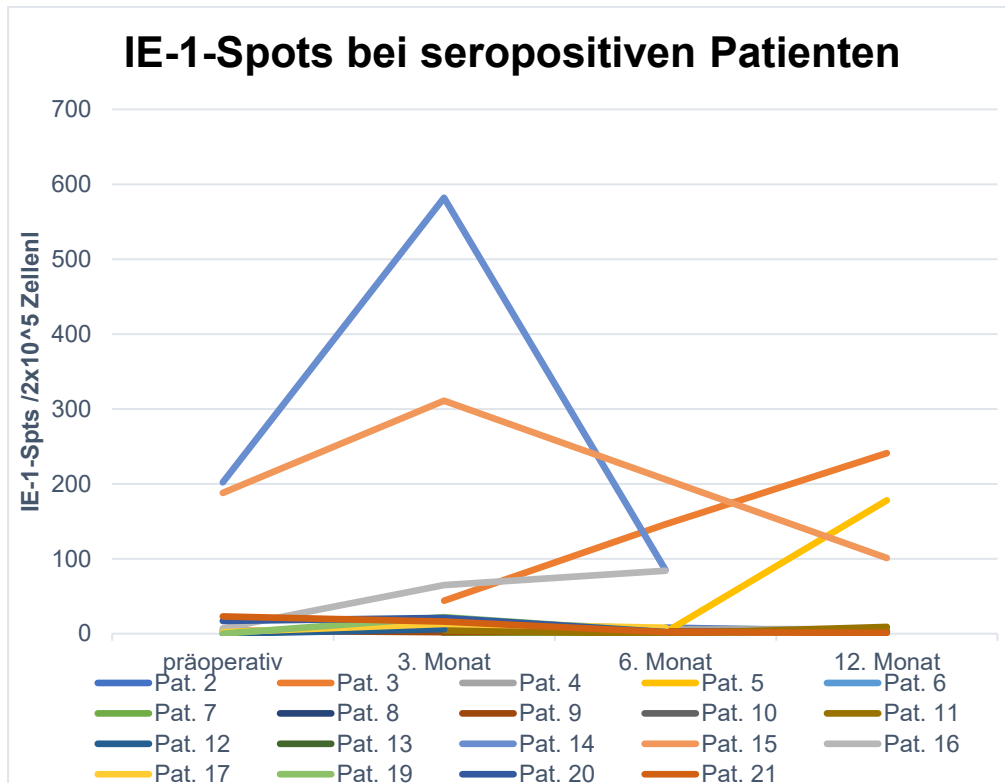


Abbildung Nr. 19: Liniendiagramm der IE-1 Spotanzahl im zeitlichen Verlauf bei seropositiven Patienten (präoperativ, nach 3,6,12 Monaten). Die Daten sind pseudonymisiert.

	n	Min	Max	Mean	Median	SD
präoperativ	12	0	202	38,92	5,5	73,5
3. Monat	19	0	582	66,58	16	143,7
6. Monat	15	0	206	38,0	8	63,6
12. Monat	12	1	241	58,1,7	7	84,9

Tabelle Nr. 23: deskriptive Analyse der IE-1-Spots im zeitlichen Verlauf bei seropositiven (präoperativ, nach 3,6,12 Monaten)

3.3.2.3. IE-1 Spots im zeitlichen Verlauf bei seropositiven Patienten ohne CMV-Reaktivierung

Die mediane Spotanzahl der IE-1-Spots bei seropositiven Patienten ohne CMV- Reaktivierung stieg innerhalb der ersten 3 Monate nach LTX von 5,5 präoperativ auf 17 an (Wilcoxon, $p=0,035$). Im 6. Monat sanken die Spots bereits wieder auf 8 ($p=0,099$). Die mediane Spotzahl nach einem Jahr betrug 8,5 ($p=0,812$).

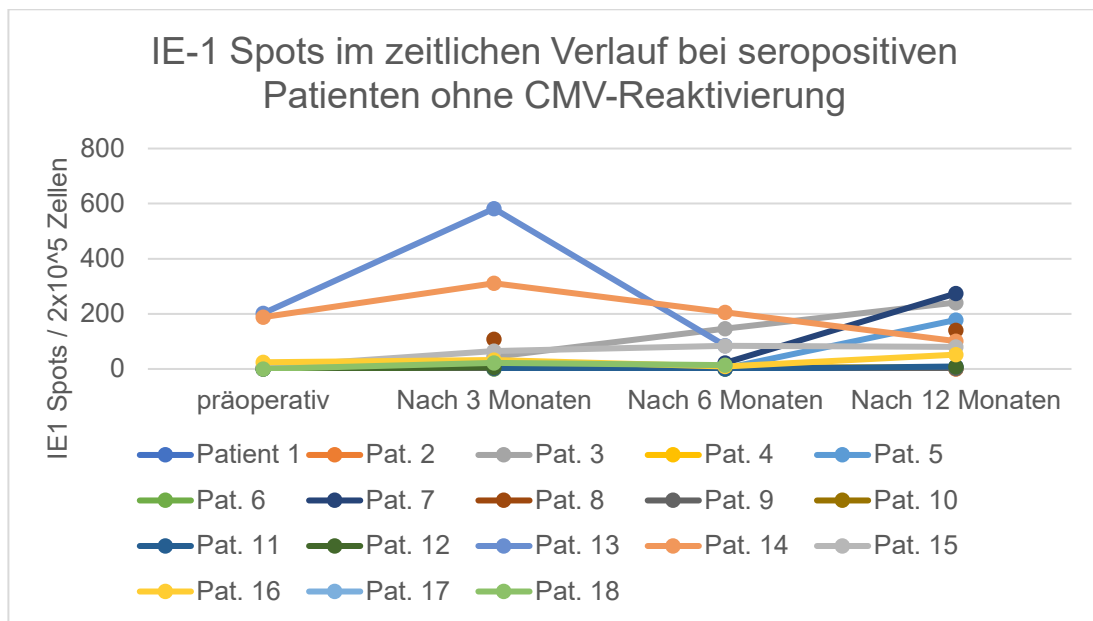


Abbildung Nr.20: Liniendiagramm der IE-1 Spots im zeitlichen Verlauf (präoperativ, nach 3,6,12 Monaten) bei seropositiven Patienten ohne CMV-Infektion

IE-1	n	Min	Max	Mittelwert	Median	SD
präoperativ	8	0	202	53,13	5,50	88,0
3. Monat	15	0	582	81,0	17,0	159,68
6. Monat	14	0	206	41,64	8,0	64,75
12. Monat	12	1	274	80,67	8,5	103,15

Tabelle Nr. 24: Deskriptive Subgruppenanalyse der IE1 Spots im zeitlichen Verlauf (präoperativ, nach 3,6,12 Monaten) bei Patienten mit seropositivem CMV-IgG-Status ohne CMV -Reaktivierung

3.3.2.4. pp65 Spots im zeitlichen Verlauf bei seropositiven Patienten ohne CMV-Reaktivierung

Die pp65-Spots von seropositiven Patienten, ohne CMV-Reaktivierung wurden in einem Liniendiagramm dargestellt. Die mediane Spotanzahl stieg innerhalb von drei Monaten nach LTX von 14,5 auf 65 an (Wilcoxon, $p=0,012$). Im 6. Monat fielen die pp65 Spotzahlen auf 28 ab ($p=0,028$). Zum 12. Monat stiegen sie wieder auf 63,5 Spots an ($p=0,138$).

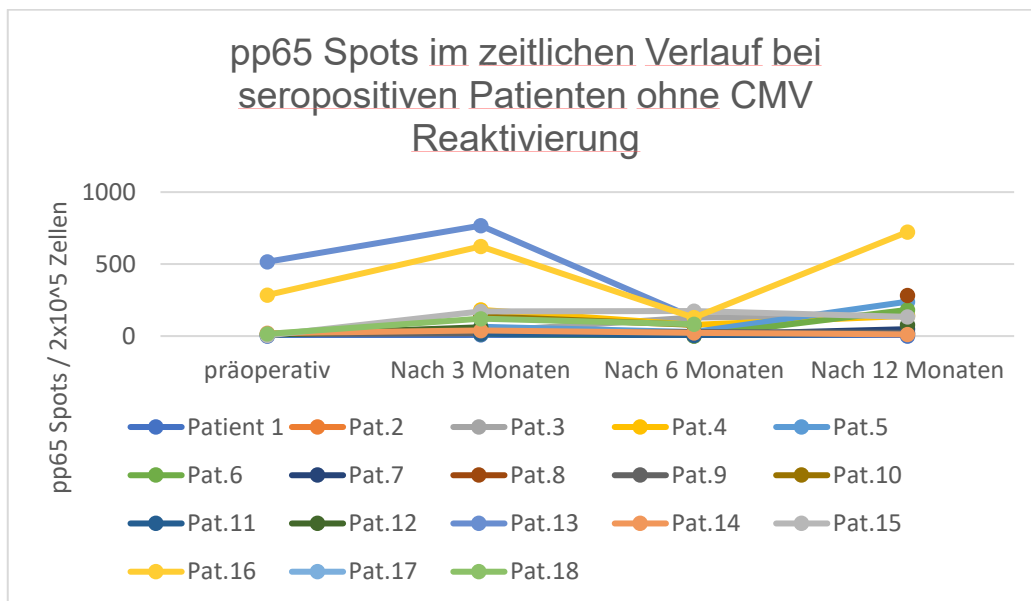


Abbildung Nr. 21: Liniendiagramm der pp65 Spots im zeitlichen Verlauf (präoperativ, nach 3,6,12 Monaten) bei seropositiven Patienten ohne CMV-Infektion

Pp65	N	Min	Max	Mean	Median	SD
präop	8	0	517	107,8	14,5	191,3
3. Monat	15	8	767	159,8	65,0	226,8
6. Monat	21	0	174	59,2	28,0	58,1
12. Monat	12	0	282	97,0	63,5	98,5

Tabelle Nr. 25: Deskriptive Subgruppenanalyse der pp65-Spots im zeitlichen Verlauf (präoperativ, nach 3,6,12 Monaten) bei Patienten mit seropositivem CMV-IgG-Status ohne CMV-Reaktivierung

3.3.3 Kasuistik: Spotanzahl und CMV-Infektionen

Bei insgesamt vier Patienten mit CMV-Infektion konnte zu verschiedenen Zeitpunkten ELISpots durchgeführt werden. Die zeitlichen Verläufe der jeweiligen Fälle wurde graphisch in Balkendiagrammen dargestellt, und der Zeitpunkt der CMV-Infektion schematisch eingefügt.

3.3.3.1. Fall 1: Verlauf der Spotanzahl nach CMV-Reaktivierung

Im ersten Fall wurden die Spotzahlen nach 3, 6 und 12 Monaten gemessen. Präoperativ wurde kein ELISpot durchgeführt. Der CMV-Risikostatus des Patienten war D+/R-. Der Patient wurde zum Zeitpunkt des 6. Monat positiv gemessen, in der darauffolgenden PCR konnte kein Virusnachweis mehr erbracht werden. Eine antivirale Therapie wurde nicht eingeleitet, es handelt sich somit um eine selbstlimitierende Infektion. Nach Reaktivierung stieg die pp65-Spotanzahl von 241 nach 6 Monaten auf 552 nach 12 Monaten.

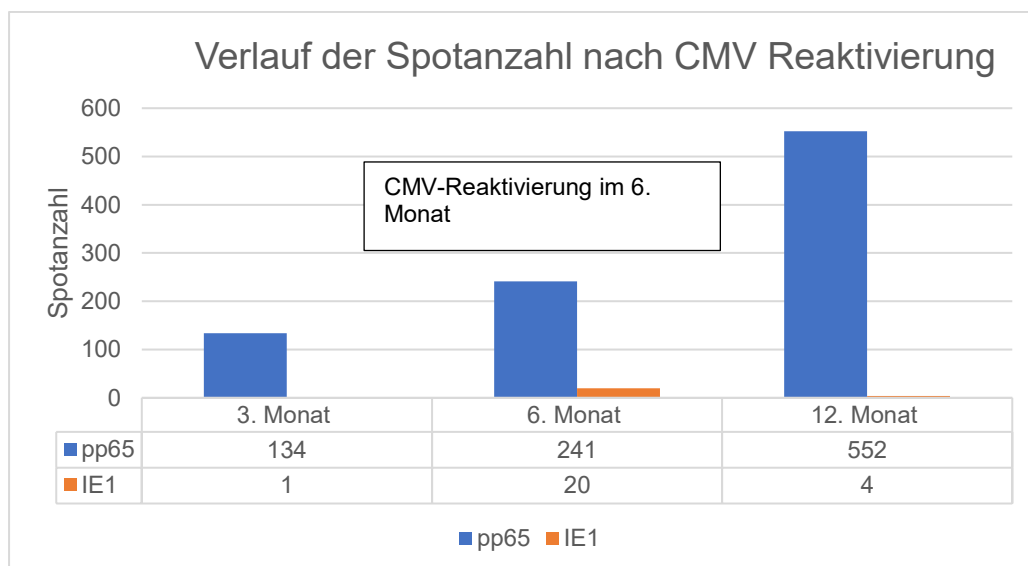


Abbildung Nr.22, Fall 1: Verlauf der IE-1 und pp65 Spotanzahl nach CMV-Reaktivierung.

3.3.3.2 Fall 2: Verlauf der Spotanzahl nach CMV-Reaktivierung

Im zweiten Fall wurden präoperativ, nach 3 und 6 Monaten Spots gemessen. Der Risikostatus des Patienten war D+/R+ (mittleres Risiko). Zum Zeitpunkt der ELISpot-Messung im 3. Monat wurde simultan der CMV-Virusnachweis erbracht. Die pp65-Spots stiegen von präoperativ 486 auf 822 nach 3 Monaten.

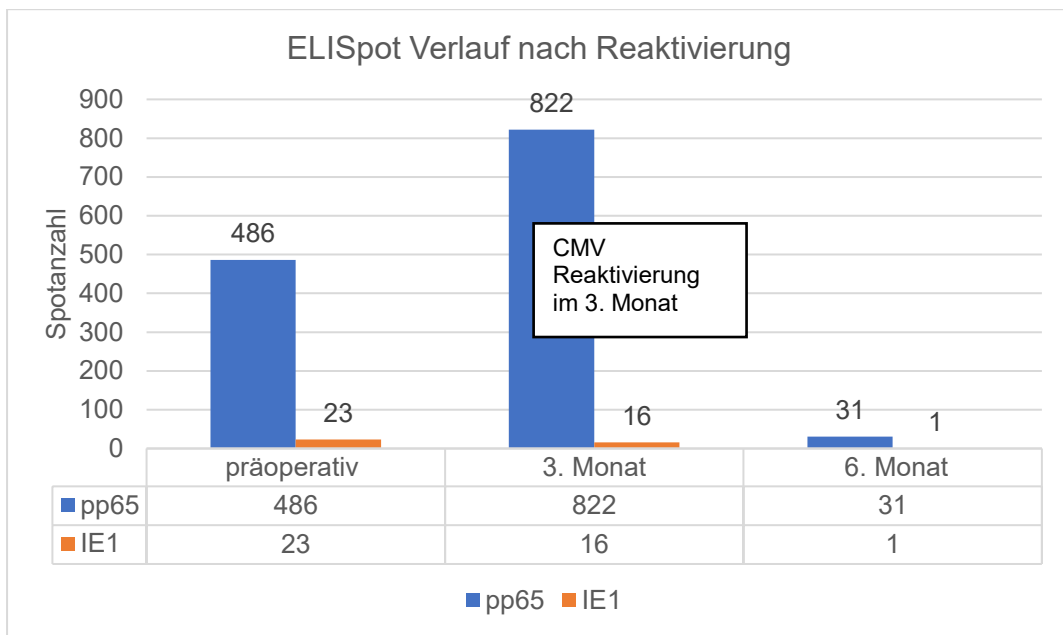


Abbildung Nr.23, Fall 2: Verlauf der IE-1 und pp65 Spotanzahl nach CMV-Reaktivierung.

3.3.3.3. Fall 3: Verlauf der Spotanzahl nach CMV-Neuinfektion

Im dritten Fall wurde der Verlauf der gemessenen ELISpots nach einer CMV-Neuinfektion dargestellt. Präoperativ wurde kein ELISpot durchgeführt. Der Patient hatte initial ein niedriges Risiko (D-/R-). Die CMV-Infektion wurde vor der ELISpot Messung festgestellt. Die Infektion wurde mit Valganciclovir behandelt. Nach Neuinfektion konnte ein Anstieg des pp65-Spots von 37 (nach 3 Monaten) auf 198 (nach 6 Monaten) verzeichnet werden, im 12. Monat fielen diese dann auf 136 ab. Die IE-1 Spots steigen nach Neuinfektion von 15 auf 49, anschließend von 49 auf 59.

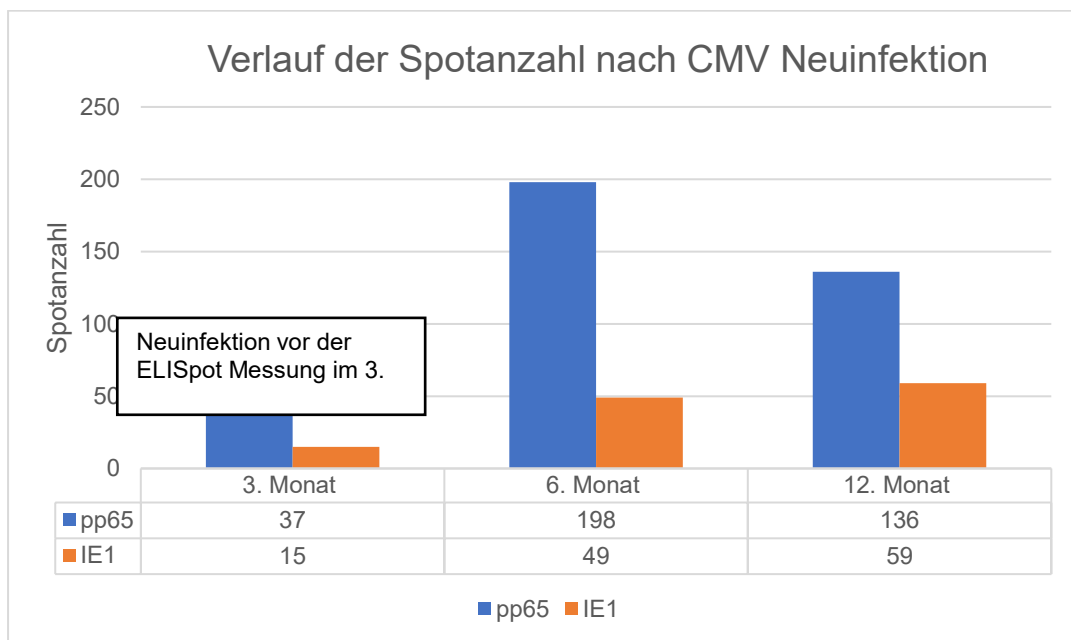


Abbildung Nr. 24, Fall 3: Verlauf der IE-1 und pp65 Spotanzahl nach CMV-Neuinfektion.

3.3.3.4. Fall 4: Verlauf der Spotanzahl nach Reaktivierung

Fall 4 zeigt wieder den Verlauf der Spotanzahl nach Reaktivierung. Der Patient hatte ein mittleres Risiko für eine CMV-Infektion (D-/R+). Nach der ersten ELISpot-Messung wurde eine CMV-Reaktivierung mittels PCR festgestellt. Der Zeitraum der Reaktivierung betrug ca. 3 Wochen. Eine antivirale Therapie wurde zunächst mit Ganciclovir eingeleitet und dann auf Valganciclovir umgestellt. Die Dauer der Therapie mit Valganciclovir war nicht bekannt. Der präoperative Ausgangswert lag bei pp65 bei 151 und stieg im 3. Monat auf 382. Anschließend fiel die Spotanzahl auf 23 im 6. Monat. Für IE-1 stieg sie von 2 auf 13 an, danach reduzierte sie sich auf 8.

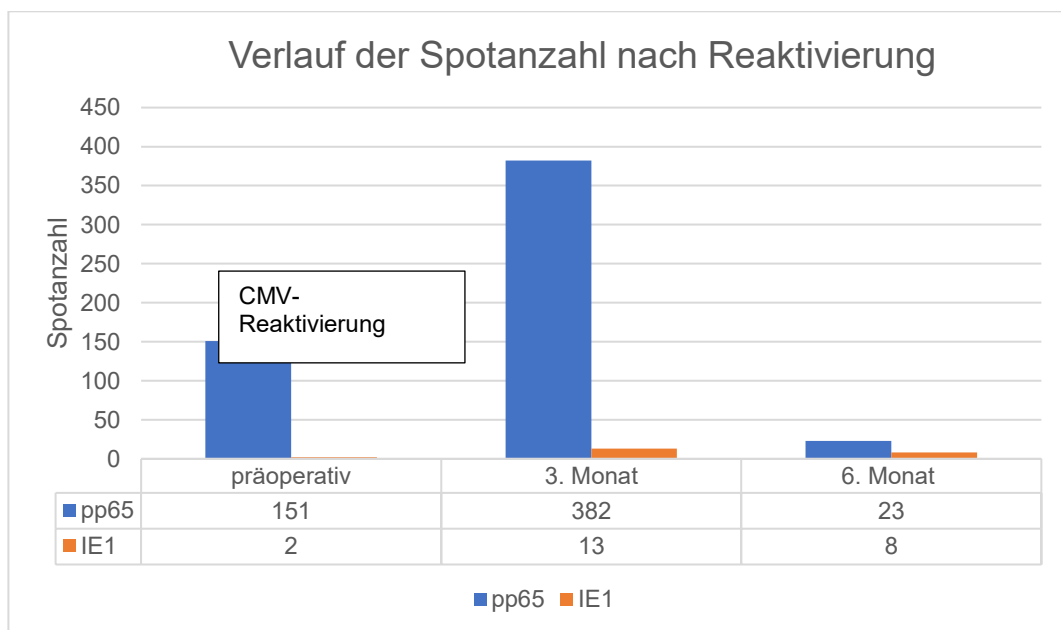


Abbildung Nr. 25 Fall 4: Verlauf der IE-1 und pp65 Spotanzahl nach CMV-Reaktivierung

3.3.4. Präoperative Spotanzahl und Häufigkeit von CMV-Infektionen

3.3.4.1. IE-1-Spots präoperativ und CMV-Infektionen

Die mediane IE-1-Spotzahl lag präoperativ bei Patienten (n=4), die sich postoperativ mit CMV infizierten höher (Median: 9,5), als bei Patienten (n=12), die sich nicht mit CMV infizierten (Median:5,5). Der Unterschied war statistisch nicht signifikant (Mann-Whitney-U-Test, $p=0,795$).

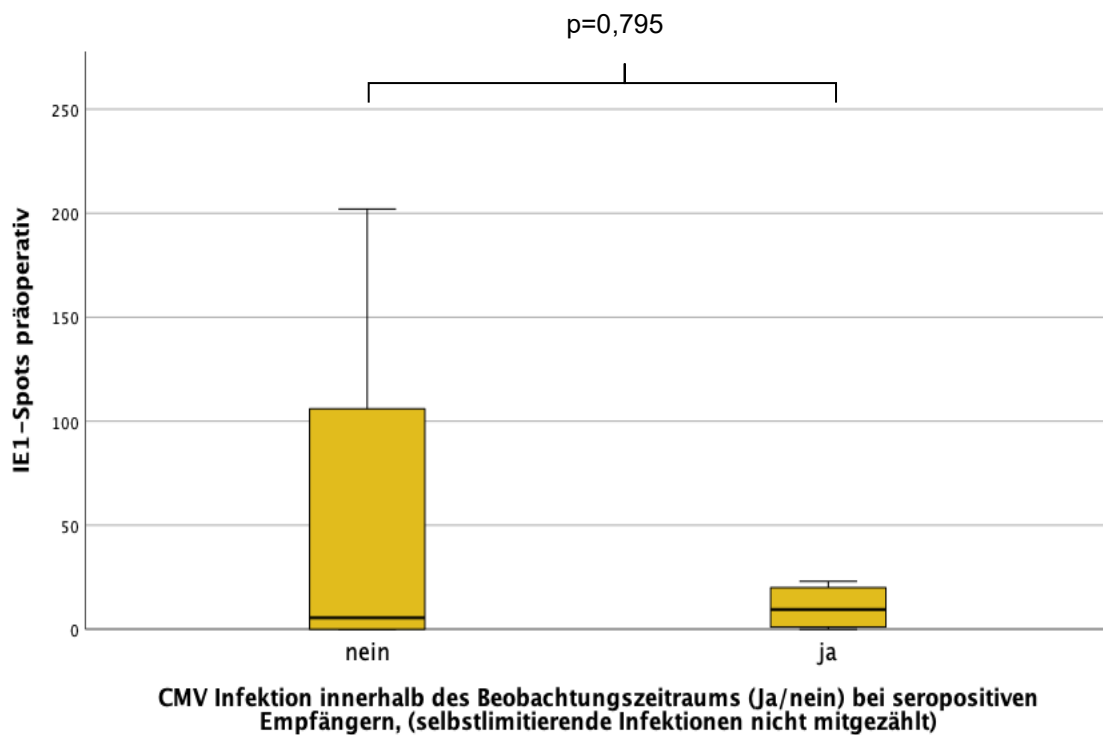


Abbildung Nr. 26 Vergleich der präoperativen IE-1 Spots zwischen seropositiven Patienten mit und ohne CMV-Infektion nach Transplantation. Links: Patienten ohne CMV-Infektion. Rechts: Patienten mit CMV-Infektion.

3.3.4.2 pp65-Spots präoperativ und CMV-Infektionen

Patienten mit CMV-Infektion (n=4) hatten präoperativ mehr Spots (Median: 87,5) als Patienten ohne CMV-Infektion (n=12) (Median: 14,5). Der Unterschied der beiden Gruppen war statistisch nicht signifikant (Mann-Whitney-U Test, p=0,552)

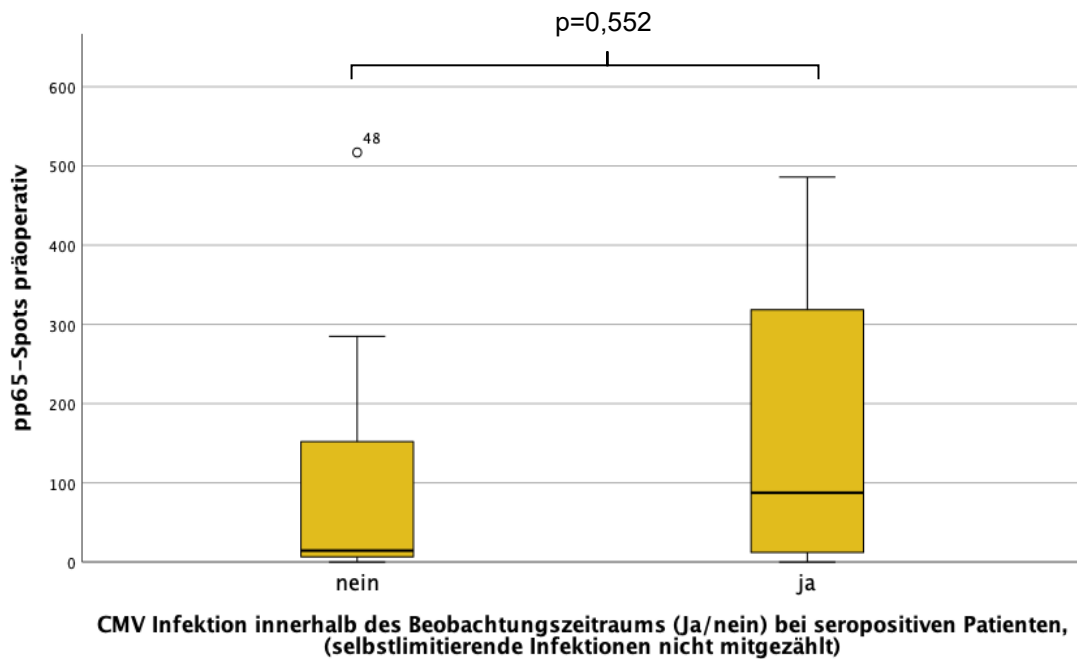


Abbildung Nr. 27: Vergleich der präoperativen pp65 Spots zwischen seropositiven Patienten mit und ohne CMV-Infektion nach Transplantation. Links: Patienten ohne CMV-Infektion. Rechts: Patienten mit CMV-Infektion.

3.3.5. labMELD und Spotanzahl präoperativ

Die präoperativen IE-1- und pp65-Spots wurden mit dem labMELD in einem Streudiagramm dargestellt. Hier ließ sich visuell kein linearer Zusammenhang erkennen. Der labMELD korrelierte weder mit den IE-1- (Spearman-Test, $\rho=0,034$, $p=0,898$), noch den pp65-Spots (Spearman-Test, $\rho=0,111$, $p=0,898$) statistisch signifikant.

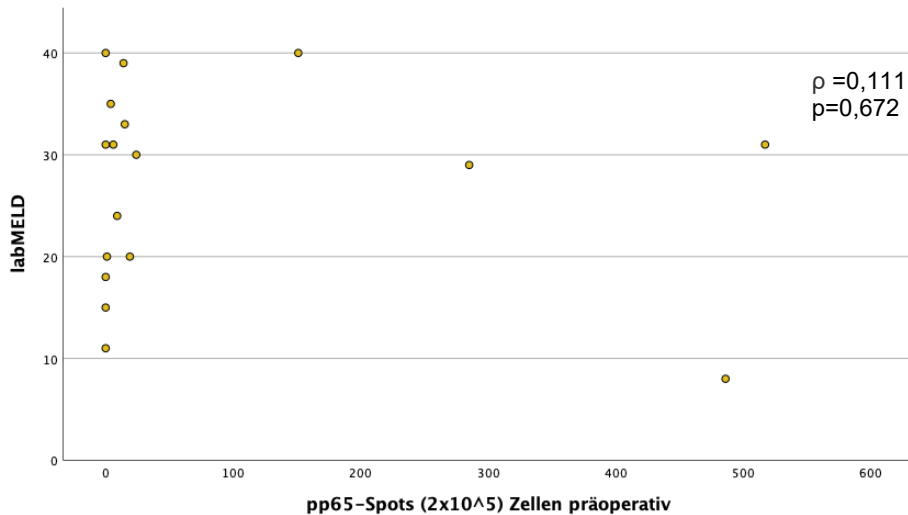


Abbildung Nr. 28: Streudiagramm: labMELD und pp65-Spots präoperativ. X-Achse: pp66-Spots. Y-Achse: labMELD

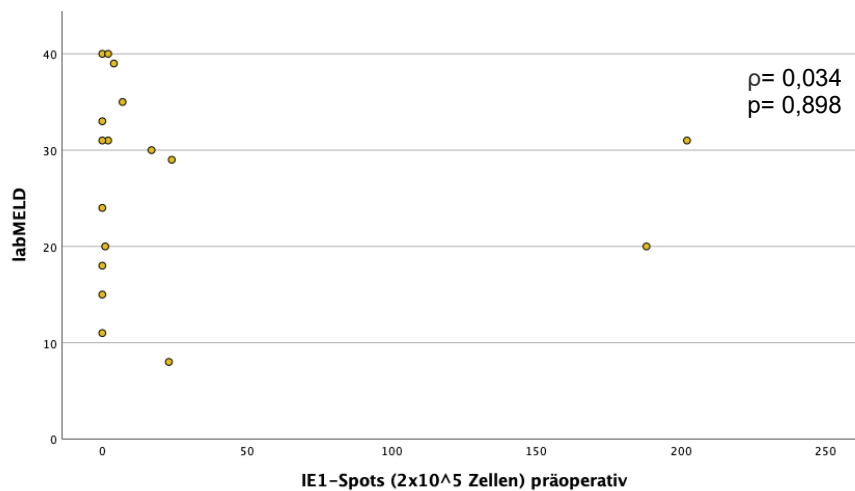


Abbildung Nr. 29: Streudiagramm: labMELD und IE1-Spots präoperativ. X-Achse: pp65-Spots. Y-Achse: labMELD.

3.3.6. Immunsuppression (Tacrolimus) und ELISpots

3.3.6.1 IE-1 und Tacrolimus

Der Tacrolimus-Talspiegel im Serum und die IE-1-Spots zu den Zeitpunkten Monat 3, 6 und 12 wurden untersucht und in einem Streudiagramm dargestellt. Eine Korrelation zwischen der Immunsuppression und den Spots konnte zu keinem Zeitpunkt festgestellt werden (Spearman-Test, 3. Monat: $\rho = -0,192$, $p=0,234$, 6. Monat: $\rho=0,038$, $p=0,856$, $\rho=-0,098$ $p=0,69$).

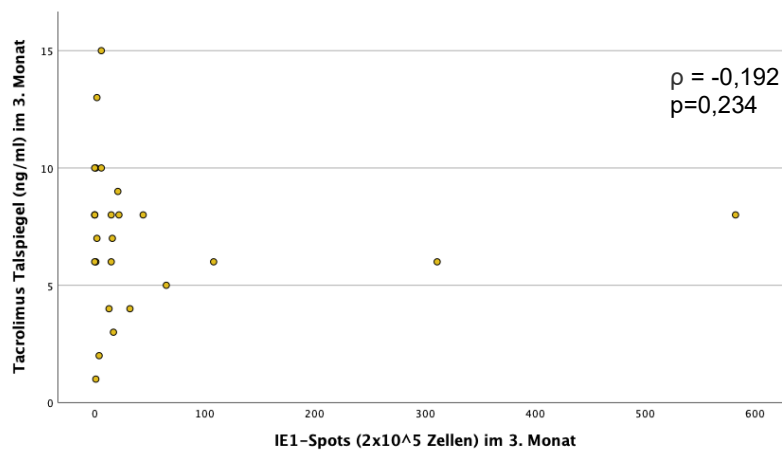


Abbildung Nr.30: Streudiagramm: IE1-Spots (Y-Achse) und Tacrolimus Spiegel (X-Achse) nach 3 Monaten

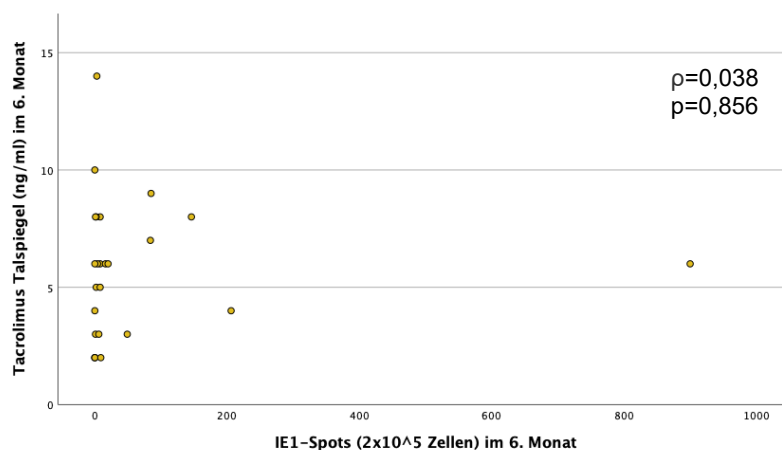


Abbildung Nr. 31: Streudiagramm: IE1-Spots (Y-Achse) und Tacrolimus-Spiegel (X-Achse) nach 6 Monaten

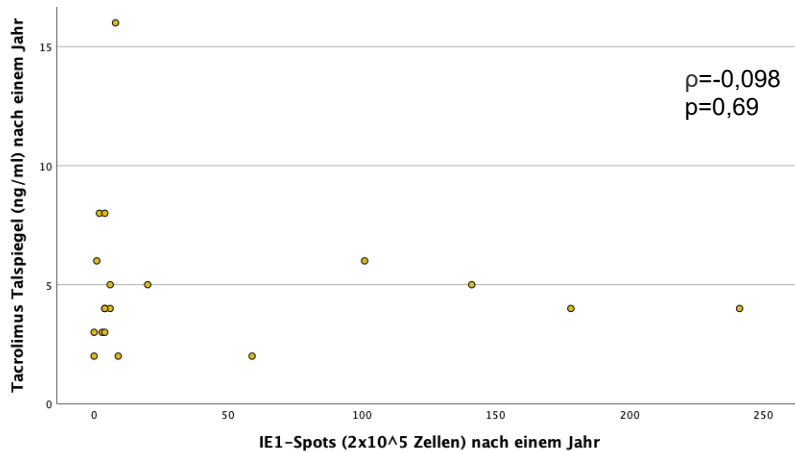


Abbildung Nr. 32: Streudiagramm: IE1-Spots (Y-Achse) und Tacrolimus-Spiegel (X-Achse) nach 12 Monaten

3.3.6.2 pp65 und Tacrolimus

Der Einfluss des Tacrolimus-Spiegels auf die Anzahl der pp65-Spots nach 3,6, und 12 Monaten wurde in einem Streudiagramm dargestellt. Es zeigte sich keine statistisch signifikante Korrelation zwischen dem Tacrolimus-Spiegel und der pp65-Spotzahl (Spearman, 3. Monat $\rho = -0,15$ $p = 0,475$, 6. Monat $\rho = 0,128$ $p = 0,533$, 12. Monat $\rho = 0,069$ $p = 0,779$).

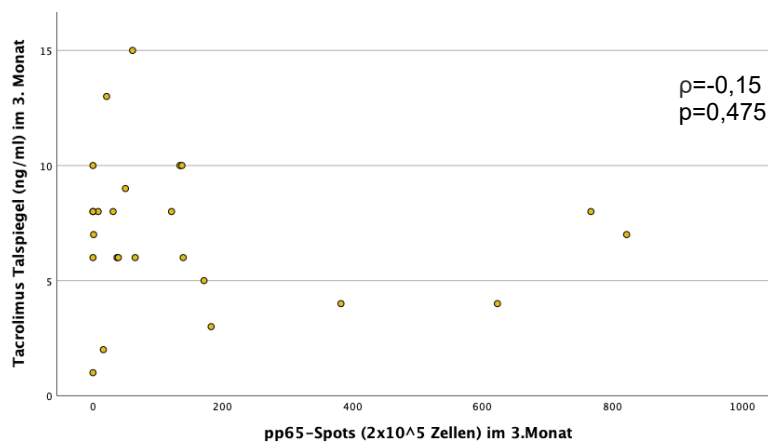


Abbildung Nr. 33: Streudiagramm: pp65-Spots (Y-Achse) und Tacrolimus-Spiegel (X-Achse) nach 3 Monaten

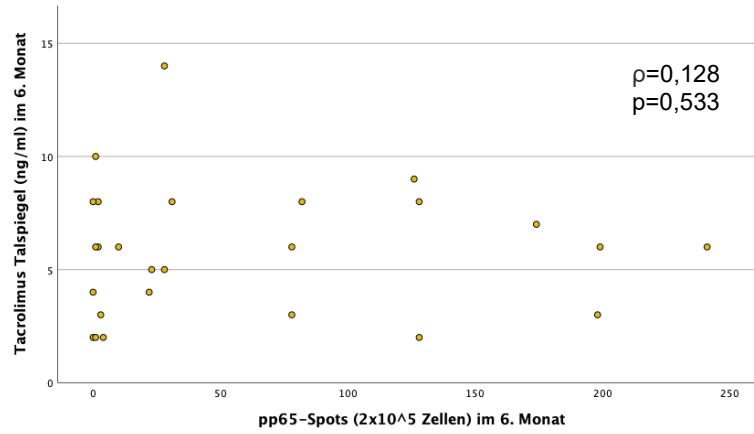


Abbildung Nr. 34: Streudiagramm: pp65-Spots (Y-Achse) und Tacrolimus-Spiegel (X-Achse) nach 6 Monaten

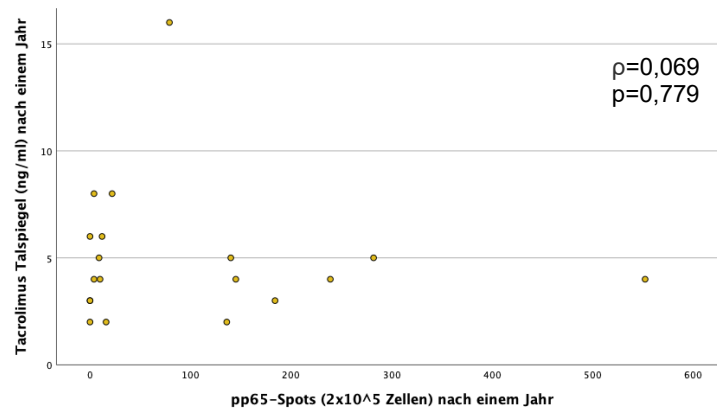


Abbildung Nr. 35: Streudiagramm: pp65-Spots (Y-Achse) und Tacrolimus-Spiegel (X-Achse) nach 12 Monaten

3.3.7. Tacrolimus-Dosis und Tacrolimus-Spiegel im zeitlichen Verlauf

Die Dosierung und der Talspiegel von Tacrolimus wurden zum Zeitpunkt der Entlassung, nach 3,6 und 12 Monaten dokumentiert. Die Immunsuppression wurde in Abhängigkeit des im Serum nachgewiesenen Talspiegels angepasst. Die Tacrolimus-Dosierung wurde in mg angegeben, der Spiegel wurde in ng/ml angegeben. Die Dosierung nahm im Verlauf kontinuierlich ab. Die Talspiegel stiegen im Durchschnitt im 3. Monat etwas an, bevor sie im Verlauf wieder abnahmen.

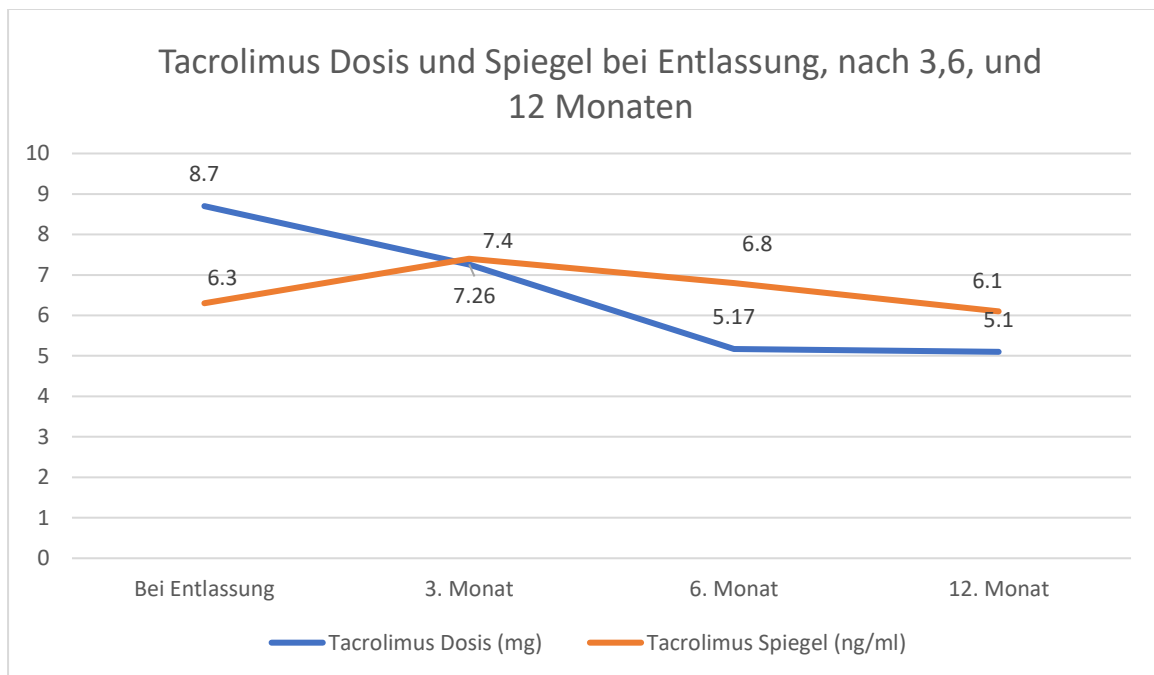


Abbildung Nr. 36: Tacrolimus Dosierung (mg) und Spiegel(ng/ml) im zeitlichen Verlauf (bei Entlassung, nach 3,6,12 Monaten)

4. Diskussion

4.1. Klinische Relevanz von Cytomegalievirus-Infektionen

Zwischen 01/20 und 12/21 wurde in der Allgemein-,Viszeral und Transplantationschirurgie an der Universitätsmedizin Mainz bei insgesamt 83 Patienten eine Lebertransplantation durchgeführt, von denen 81 Patienten in die vorliegende Studie eingeschlossen wurden. Hiervon waren 60,5% (n=49) männlich, 39,5% (n=32) weiblich. Bei 43% (n=35) der Patienten konnte serologisch der Nachweis von CMV-Virusmaterial erbracht werden. In der Literatur wird die postoperative Inzidenz mit 29% angegeben (44). Eine große Studie mit insgesamt 1427 transplantierten Patienten, ordnet die CMV-Inzidenz bei Lebertransplantation bei 35,7% ein (45). Zieht man im vorliegenden Kollektiv die selbstlimitierenden Infektionen ab, gleicht sich die Zahl an echten CMV-Infektionen (n=19; 23,46%) der Literatur an.

Eine koreanische Studie zur nationalen Häufigkeit von CMV-Infektionen nach Organtransplantation kommt hingegen zu einem anderen Schluss: Hier hatten Patienten nach Lebertransplantation die niedrigste Inzidenz (0,9%) an CMV-Infektionen, was daran liegen könnte, dass die Patienten durchschnittlich deutlich jünger ($42 \pm 26,8$ Jahre) als im eigenen Patientenkollektiv (54,7Jahre), und vermutlich prä-, und postoperativ weniger krank waren (46).

Durch Anwendung der präemptiven Strategie konnte weder ein CMV-Syndrom noch eine CMV-Erkrankung festgestellt werden. Unter den im Untersuchungszeitraum verstorbenen 11 Patienten, hatten insgesamt 54% (n=6) Patienten eine Reaktivierung oder Neuinfektion. In diesem Patientenkollektiv kamen die meisten Infektionen (n=18) innerhalb der ersten drei Monate vor. Zwischen dem 3. und 6. Monat waren es deutlich weniger (n=4) und zwischen dem 6. und 12. Monat konnten nur noch zwei CMV-Infektionen festgestellt werden. Das entspricht auch den Angaben in der Literatur (26)(45). Die Abnahme der CMV-Infektionen mit der Zeit könnte mit dem Ausschleichen der immunsuppressiven Medikation und der Besserung des Gesundheitszustandes der Patienten erklärt werden.

Im vorliegenden Kollektiv waren Patienten, die an CMV postoperativ erkrankten, durchschnittlich 3,64 Jahre älter (Mittelwert: 56,8) als jene ohne Infektion (Mittelwert: 53,1) ($p=0,89$). Die höhere Infektanfälligkeit im Alter hängt vermutlich mit der im Alter zunehmenden „Immunseneszenz“ zusammen (47). Hierbei kommt es zu einem progredienten funktionellen Nachlassen des Immunsystems, während sich der Körper in einem dauerhaften subklinisch proinflammatorischen Zustand befindet. Eine Studie von Hemmersbach-Miller et. al. konnte für Patienten nach Nierentransplantation >65 Jahre ein 3,13-fach höheres Risiko für eine CMV-Infektion ausmachen, als für die jüngere Patientengruppe (40-65j) (48).

4.1.1 CMV und Mortalität/Morbidität

Insgesamt sind 11 Patienten nach Transplantation innerhalb des Untersuchungszeitraums verstorben, hiervon hatten 45% (n=5) eine CMV-Infektion. Von fünf Patienten, die an einem septischen Multiorganversagen gestorben sind, hatten drei eine CMV-Reaktivierung in dieser Zeit, was bestätigt, dass Patienten in septischem Zustand wegen des komprimierten Immunsystems für CMV-Infektionen prädestiniert sind (22)(23). Eine zusätzliche CMV-Reaktivierung reduziert die Überlebenserwartung kritisch kranker Intensivpatienten deutlich, wie in mehreren Tiermodellen, Beobachtungs-, und in *in-vitro*-Studien gezeigt werden konnte (49). Auch im eigenen Kollektiv wurde ein reduziertes kumulatives Überleben für Patienten mit CMV-Infektion innerhalb des stationären Aufenthalts beobachtet ($p=0,006$). Dieses Ergebnis spiegelt die vorliegende Literatur wieder (24): In einer australischen Studie mit 435 nierentransplantierten Patienten hatten jene mit CMV-Infektion ein dreifach erhöhtes Mortalitätsrisiko ($p<0,001$); von 55 verstorbenen Patienten hatten 20 eine manifeste CMV-Infektion (50). Kim et. al. konnte ebenfalls eine CMV-Infektion als unabhängigen Risikofaktor für eine Abstoßung ($p=0,0018$) und Mortalität ($p=0,004$) identifizieren (51). Wie in der Einleitung bereits beschrieben, sind sowohl die direkten als auch indirekten Effekte von CMV für die erhöhte Mortalität ursächlich (28).

In der vorliegenden Arbeit konnte weiterhin demonstriert werden, dass eine CMV-Infektion innerhalb des stationären Aufenthalts nach LTX mit einer signifikant längeren Krankenhausverweildauer einhergeht ($p<0,001$). Dasselbe gilt für Patienten nach Nierentransplantation, wie eine Dissertation zu diesem Thema aus Ulm zeigt (52). Eine Studie von Falagas et. al. aus dem Jahr 1997 konnte ebenfalls einen Zusammenhang zwischen einer CMV-Infektion und der Krankenhausverweildauer nach Lebertransplantation herstellen. Die verlängerte Hospitalisierung wurde in der Studie durch die direkten und insbesondere indirekten Effekte einer CMV-Infektion, wie Abstoßung, bakterielle Superinfektionen oder Sepsis erklärt (53). Zudem waren laut der Studie deutlich höhere Behandlungskosten für Patienten mit CMV-Infektion notwendig als für jene ohne Infektion. In einer anderen Studie identifizierten Kim et. al. eine Infektion mit CMV nach Lebertransplantation als unabhängigen Kostenfaktor: Die Kosten für Patienten mit CMV Erkrankung waren signifikant höher, als bei Patienten ohne Infektion (Median 148.300 USD vs. Median 114.00 USD, $p<0,001$) (54).

4.1.2 Immunsuppression und CMV-Infektionen

Alle eingeschlossenen Patienten erhielten eine Immunsuppression eine Mono-, duale oder Triple-Therapie mit einem Calcineurin-Inhibitor als Basis.

Unter den Calcineurin-Inhibitoren konnte für Tacrolimus protektive Eigenschaften festgestellt werden (Monat 3: RR =0,61 p=0,3398, Monat 6 RR = 0,22 p= 0,11), während Cyclosporin als Risikofaktor identifiziert werden konnte (Monat 3 RR= 1,62 p=0,339, Monat 6 RR=4,46 p=0,116, Monat 12 RR 4,0174 p= 0,309). Trotz fehlender Signifikanz entsprechen diese Ergebnisse der Literatur. In einer brasilianischen Studie hatten Patienten, die nach Lebertransplantation Cyclosporin statt Tacrolimus erhalten haben, ein 5,8-fach erhöhtes Risiko für eine CMV-Infektion (55).

Everolimus hatte einen protektiven Einfluss auf die Häufigkeit von CMV in den ersten 3 Monaten, anschließend erhöhte es das Risiko für eine CMV- Infektion (Monat 0-3 RR 0,46 p=0,44, Monat 3-6: RR 1,63 p=0,065). In der Literatur zeichnet sich hingegen ein klareres Bild ab: Eine große Metaanalyse von Wolf et. al. hat bei 11.655 Patienten nach Nierentransplantation den Einfluss von mTOR-Inhibitoren auf die Häufigkeit von CMV-Infektionen untersucht. Hier konnte für Everolimus in Kombination mit einem Calcineurin-Inhibitor protektive Eigenschaften gegen CMV nachgewiesen werden (RR 0,27. p=0,0001) (56).

In der vorliegenden Arbeit konnte MMF als protektiver Faktor identifiziert werden (Monat 0-3: RR 0,34 p=0,2793, 6 Monat RR 0,7937 p=0,837). Das widerspricht der Literatur, da MMF sowohl die Häufigkeit als auch die Invasivität der CMV-Infektionen erhöht (57)(58).

4.1.3.Evidenzlage zur CMV-Prophylaxe

Die gegenwärtige Evidenzlage zeigt einen allgemeinen Vorteil sowohl einer Prophylaxe als auch der präemptiven Strategie bei allen Formen von Organtransplantationen, unabhängig vom Risikostatus: So zeigt zum Beispiel eine Metaanalyse von Kalil et al. eine signifikante Reduktion an CMV-Endorgan- Erkrankungen (Prophylaxe 80% vs. präemptive Strategie 72%), akuten Abstoßungen, opportunistischen Infektionen (51% vs. 38%) und der Gesamtmortalität (59).

Eine von der Cochrane Collaboration durchgeführte Metaanalyse von 32 randomisierten Kontrollstudien zur CMV-Prophylaxe bei Herz,-Leber und Nierentransplantationen konnte einen Vorteil der Prophylaxe bezüglich der Gesamtmortalität, der CMV-assoziierten Infektionen und der damit verbundenen Mortalität, gegenüber der Placebogruppe zeigen, sodass der routinemäßige Einsatz der Prophylaxe empfohlen wird (60).

Interessanterweise scheinen Patienten mit CMV-Prophylaxe niedrigere Behandlungskosten zu benötigen: Legendre et. al konnten zeigen, dass sich der Krankenhausaufenthalt bei Patienten durch die Prophylaxe im Schnitt 5,5 Tage verkürzte. Weiterhin reduzierten sich hierdurch die Behandlungskosten, weil weniger Ressourcen wie Labortests in Anspruch genommen wurden. Die Kosten, die eingespart wurden, überwogen die Kosten für die Prophylaxe deutlich (61).

Dennoch müssen die nicht zu unterschätzenden potenziellen Nebenwirkungen der Prophylaxe, wie zum Beispiel Myelotoxizität oder Nephrotoxizität ebenfalls berücksichtigt werden. Eine weitere Risikostratifizierung der Patienten scheint daher sinnvoll, und könnte einen wichtigen Beitrag in der Abwägung des Nutzens und der Nachteile einer Prophylaxe und dem Risiko eine CMV-Infektion auf der anderen Seite leisten.

4.1.4. CMV-Risikogruppen im eigenen Patienten Kollektiv

Im vorliegenden Patientenkollektiv hatten 23,46 % (n=19) ein hohes (D+/R-), 59,25% (n=48) ein mittleres (D+/R+, D-/R+), und 17,28% (n=14) ein niedriges (D-/R-) Infektionsrisiko. 31% (6/19) der Patienten mit hohem Risiko infizierten sich trotz Prophylaxe mit CMV. Unter Patienten mit mittlerem Risiko waren es 27% (13/48) und mit niedrigem Risiko 7,1% (1/14).

In einer Schweizer Studie von Stern et. al. mit 237 Patienten nach Lebertransplantation hatten 16,46% (n =39) der Patienten ein hohes, 64,9% (n= 154, D+ n=91, D- n=63) ein mittleres und 15,1% (n=36) ein niedriges CMV-Infektionsrisiko. Die Verteilung der Risikogruppen entspricht ungefähr unserem Patientenkollektiv (62). Laut Studie infizierten sich 47,3% der Patienten mit hohem, 56% (D+/R+) bzw. 41% (D-/R+) mit mittlerem und 3% mit niedrigem Risiko eine CMV-Infektion nach Organtransplantation. Die Autoren beschreiben, dass in ihrem Kollektiv nur 79% in der Hochrisikogruppe eine Prophylaxe erhielten, während es in der mittleren Risikogruppe bis zu 50% waren (D-/R+ 50%, D+/R+ 49%) (62). Leider schließt die Studie auch Lungen-, Nieren- und Herztransplantationen mit ein, sodass nicht explizit beschrieben wird, bei welcher CMV-Risikokonstellation nach Lebertransplantationen eine Prophylaxe gegeben wurde. Insgesamt erhielten 45 Patienten eine Prophylaxe mit Valganciclovir nach Lebertransplantation (62).

Da es im deutschsprachigen Raum für CMV-Infektionen nach Transplantation keine standardisierte Leitlinienempfehlung gibt, bleibt es den jeweiligen Transplantationszentren grundsätzlich überlassen, ab welchem Risiko eine Prophylaxe vorgesehen ist. In der klinischen Praxis am eigenen Transplantationszentrum erhalten nur Patienten mit hohem Risiko eine Prophylaxe.

Im eigenen Kollektiv erhielten in der Hochrisikogruppe 94,7% (18/19) eine Prophylaxe, eine Patientin hat die Prophylaxe abgelehnt. In der mittleren Risikogruppe bekamen 6,2% (3/49) eine Prophylaxe, die restlichen Patienten wurden mittels präemptiver Strategie überwacht. Gründe für die Vergabe einer antiviralen Prophylaxe trotz mittleren Risikos waren: 1) simultane Nierentransplantation, 2) Re-Lebertransplantation 3) Aktive CMV-Infektion während der Transplantation. In der Gruppe mit niedrigem Risiko erhielt niemand eine Prophylaxe.

Von den sechs Hochrisikopatienten mit CMV-Infektionen bekamen drei Patienten diese nach Absetzen der Prophylaxe. Das zeigt, dass die Prophylaxe die Infektion häufig nur zeitlich verschiebt, wie auch andere Autoren zeigen konnten (63). In einer kürzlich publizierten Studie erlitten Hochrisikopatienten mit antiviraler Prophylaxe zwar signifikant häufiger einen CMV-Infekt als Patienten mit präemptiver Strategie (19% vs. 9%), allerdings unterschieden sie sich hinsichtlich der Mortalität, der Abstoßungsrate, sowie der Häufigkeit von opportunistischen Infektionen nicht signifikant (64). Grundsätzlich ist es vorstellbar, dass die Patienten mit Hochrisikoprofil von einer Prophylaxe profitieren, da sie sich in dieser Zeit von der Operation

und ihrer Grunderkrankung erholen und ihren immunologischen Status verbessern können (65).

Die meisten CMV-Infektionen traten in der Patientengruppe mit mittlerem Risiko auf (27% (14/48), hiervon waren in erster Linie Patienten mit positiven Spenderorgan betroffen (D- = 8,3%, 4/14 vs. D+= 20,8%, 10/14). Razonable et. al. kamen ebenfalls zu dem Schluss, dass CMV-IgG-positive Empfänger, die ein CMV-IgG positives Organ erhalten, häufiger eine CMV Infektion erleiden (26). In einer 2020 im World Transplantation Journal erschienenen Arbeit bekamen seropositive Empfänger, die ein seropositives Organ erhielten, eine Prophylaxe für 3 Monate. War das Organ seropositiv wurde sogar eine Prophylaxe für 6 Monate empfohlen (44). Bei Nierentransplantationen wurde bereits in der mittleren Risikogruppe eine antivirale Prophylaxe gegeben. Hier konnte gezeigt werden, dass die Prophylaxe der präemptiven Strategie hinsichtlich der Häufigkeit von CMV Infektionen überlegen ist, bei vergleichbaren Kosten(66). Dennoch mangelt es an ausreichend Daten und Studien, die die präemptive Strategie und Prophylaxe nach Lebertransplantation bei mittlerem Risiko vergleichen (26). Gegebenenfalls könnten seropositive Empfänger, die ein seropositives Organ erhalten, ebenfalls von einer Prophylaxe profitieren. Eine weitere Optimierung der Risikostratifizierung erscheint daher notwendig, um die Patienten, mit einer hohen Infektionswahrscheinlichkeit genauer zu identifizieren.

4.2 MELD-Score als Werkzeug zur Risikostratifizierung?

Der Einfluss des labMELD auf die Häufigkeit von CMV-Infektionen wurde untersucht. Der durchschnittliche labMELD im vorliegenden Patientenkollektiv lag bei 23,11, der Median bei 23. Der labMELD unterschied sich nicht signifikant zwischen Patienten mit und ohne CMV-Infektion (Median CMV-Infektion=26 vs. Median keine CMV-Infektion= 23) innerhalb der ersten 3 Monate nach LTX ($p=0,53$).

Auch in den jeweiligen Risikogruppen gab es keinen signifikanten Unterschied labMELD zwischen Patienten mit CMV-Infektion und ohne CMV-Infektion innerhalb der ersten 3 Monate (Hohes Risiko: $p= 0,815$, mittleres Risiko: $p=0,334$).

Eine Subgruppenanalyse von Singh et. al zur Identifikation von Risikofaktoren für eine CMV-Infektion nach Transplantation konnte den MELD-Score bei High Risk-Patienten ebenfalls nicht als Risikofaktor für eine CMV-Infektion ausmachen (67). Allerdings ist die Aussagekraft der Studie hinsichtlich des MELD-Scores limitiert, da sich in der Gruppe ohne CMV-Virämie nur $n=15$ Patienten befanden. Eine kürzlich publizierte retrospektive Studie von Freedman et. al. kommt zu einem anderen Ergebnis: Hier konnte ein MELD >35 bei lebertransplantierten Patienten ($n=241$) mit hohem CMV-Infektionsrisiko als Risikofaktor für eine CMV-Virämie innerhalb der ersten 12 Monate identifiziert werden (68). Die Autoren beschreiben weiterhin, dass das Leberversagen, meistens verursacht durch eine Zirrhose, zu einer zusätzlichen Insuffizienz des Immunsystems führt und somit eine CMV-Virämie begünstigt, was den MELD Score grundsätzlich als „CMV-Risikoscore“ infrage kommen lässt (68). Aufgrund der geringen Zahl an Hochrisikopatienten ($n=5$) mit einem MELD >35 im eigenen Patientenkollektiv konnte dieses Ergebnis nicht nachgewiesen werden.

In der Intermediate Risk-Gruppe hatten Patienten ohne CMV-Infektion einen höheren labMELD (23,95), als Patienten mit CMV-Infektion (20,25). Der Unterschied war nicht statistisch signifikant ($p=0,334$). In der Literatur gibt es keine Daten zum labMELD als Risikofaktor für eine CMV-Infektion bei mittlerem Risiko. Von einem signifikanten Einfluss des MELD-Scores auf die Häufigkeit von CMV-Infektionen kann anhand der vorliegenden Daten nicht ausgegangen werden, er scheint sich daher nicht als alleiniges Instrument zur Risikoeinschätzung für eine CMV-Infektion zu eignen.

4.3. ELISpots

Um eine mögliche Nutzbarkeit der ELISpots zur Risikostratifizierung für eine CMV-Infektion zu beurteilen, wurden die Daten lebertransplantierten Patienten einer an der Universitätsmedizin Mainz durchgeführten Studie zur Untersuchung der Immunreaktivität nach Organtransplantation („Immunmonitoring-Studie“) ausgewertet. Insgesamt wurden 39 lebertransplantierte Patienten in die Studie eingeschlossen. Den eingeschlossenen Patienten wurde jeweils präoperativ und dann nach 3, 6 und 12 Monaten nach Transplantation 7,5ml Blut abgenommen. Anschließend wurde die CMV-spezifische Immunreaktivität mittels ELISpot analysiert. Kein präoperativ getesteter seronegativer Patient zeigte Spots, der Test korreliert also mit serologischen Ergebnissen.

4.3.1 ELISpots präoperativ, nach 3,6 und 12 Monaten

Alle IE-1-, als auch pp65-Spots bei seropositiven Patienten wurden in einer Liniengraphik dargestellt. Hier zeigte sich, dass die IE-1-, als auch pp65-Spots innerhalb der ersten drei Monate nach Transplantation deutlich anstiegen (siehe Graphik unter 3.3.3.1 und 3.3.3.2.). Von den insgesamt 17 Patienten mit präoperativen ELISpot- Daten waren 12 seropositiv. Vor der Transplantation wurden deutlich weniger IE-1-, und pp65 Spots gemessen, als 3 Monate nach der Transplantation. Der Unterschied war statistisch signifikant (IE-1 $p=0,016$, pp65 $p=0,003$). Betrachtet man nur die seropositiven Patienten ohne CMV-Infektion im Verlauf, lässt sich ebenfalls ein Anstieg der Spotanzahl drei Monate nach LTX verzeichnen.

Interessanterweise fielen bei zwei Patienten zum 6. Monat sowohl die IE-1-, als auch pp65-Spots ab. Einer dieser Patienten wurde innerhalb dieses Zeitraumes zweimal stationär aufgenommen werden, einmal wegen eines Herpes Zoster-Meningitis, einmal wegen einer Verminderung des Allgemeinzustandes unklarer Genese. Dies könnte die Reduktion der T-Zellen erklären. Für den anderen Patienten konnte keine medizinische Ursache für die fallenden Spots in diesem Zeitraum gefunden werden.

Die niedrige Spotanzahl präoperativ könnten durch das komprimierte Immunsystem und den reduzierten Allgemeinzustand vieler leberkranker Patienten vor der Operation erklärt werden. Lebererkrankungen, insbesondere die Zirrhose, führen zur multiplen Fehlfunktionen des Immunsystems, die unter dem Begriff „Cirrhosis associated immune dysfunction“ zusammengefasst werden können (69). In diesem Rahmen wurde analysiert, ob eine Korrelation zwischen der Höhe des MELD-Scores, der die Schwere der Lebererkrankung angibt und der Spotanzahl besteht: Weder die IE-1-Spots noch die pp65-Spots korrelierten mit der Höhe des labMELD vor Transplantation.

Die fehlende Korrelation ist vermutlich in der Funktion des MELD-Scores begründet: Dieser gibt zwar den Schweregrad der Lebererkrankung und die Überlebenschancen anhand des Serum-Bilirubins, -Kreatinins und der Gerinnung (INR) an, die durch die Leberzirrhose beeinträchtigte Immunfunktion wird durch den Score allerdings nicht wiedergegeben (70).

Der Anstieg der Spots nach 3 Monaten könnte mit der allmählichen Genesung der Patienten nach der Transplantation sowie der moderaten Immunsuppression nach LTX zusammenhängen.

Da sich die vorhandene Literatur meistens auf die Nutzung des ELISpots im Rahmen der Nierentransplantation bezieht, konnte trotz ausführlicher Recherche keine vergleichbare Studie zum Einsatz des ELISpot bei Lebertransplantationen in der Datenbank PubMed und Google Scholar gefunden werden. Dass sich die ELISpot- Literatur fast ausschließlich auf die NTX bezieht, könnte daran liegen, dass die Niere ein anderes immunologisches Profil aufweist, eine höhere Immunsuppression erfordert und deshalb die Überwachung der Immunfunktion (z.B. durch einen ELISpot) relevanter ist als bei der Leber.

Verglichen mit den leberkranken Patienten sind die Patienten vor NTX häufig präoperativ weniger krank, müssen aber wegen der immunologischen Eigenschaften der Nieren postoperativ stärker immunsupprimiert werden (71).

Eine Studie von Stranova et. al. hat die CMV-spezifische Immunität mittels ELISpot bei Nierentransplantierten ohne CMV-Infektion untersucht. Hier konnte kein Unterschied in der Spotanzahl präoperativ und 6 Monate nach Nierentransplantation festgestellt werden (72). Die Spotzahlen der 18 Patienten ohne CMV-Infektion stiegen nach der Transplantation innerhalb der ersten 6 Monate zwar geringfügig an (pp65 präoperativ =262, pp65 6.Monat=320; IE-1 präoperativ=69,5, IE-1 6. Monat 87,5), der Unterschied war allerdings nicht signifikant (pp65 $p=0,836$, IE-1 $p=0,849$) (72). Laut Studie hatte weder die Immunsuppression noch die Dialyse einen Einfluss auf die CMV spezifische T-Zell-Immunität. Ebenfalls sind die präoperativen Spotzahlen in der Studie von Stranova et. al. deutlich höher als im vorliegenden Kollektiv. Das könnte ebenfalls ein Hinweis auf präoperativ besseren Gesundheitszustand der Nierenpatienten sein.

4.3.2 Spots im zeitlichen Verlauf nach CMV-Infektion

Bei allen Patienten, die eine CMV-Infektion erlitten, stiegen die Spots zunächst stark an. Der Anstieg lässt sich durch die vermehrte Proliferation an CMV-spezifischen T-Zellen erklären. Tischer et. al konnten ebenfalls eine deutliche Steigerung der Spotanzahl nach CMV-Infektion feststellen (73). Allerdings fiel die Spotanzahl nach dem initialen Anstieg nach erfolgter CMV-Infektion in der darauffolgenden Messung wieder. Grund hierfür könnte die antivirale Therapie sein. Eine tschechische Studie konnte zeigen, dass die Proliferation vieler Subsets von T-Lymphozyten durch Valganciclovir gehemmt wird, allerdings waren CMV spezifische pp65 T-Lymphozyten hiervon nicht betroffen (74). Eine Untersuchung des Einflusses von Valganciclovir auf die CMV spezifischen pp65 und IE-1- T-Lymphozyten bei Patienten ohne CMV-Infektion und mit Prophylaxe konnte nicht sinnvoll durchgeführt werden. Die Subgruppe war mit n=2 Patienten für eine Analyse zu klein.

4.3.3 Vergleich zwischen IE-1-, und pp65-Spots

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass die pp65 -spezifische T-Zell-Reaktivität (mehr Spots) zu allen Messzeitpunkten deutlich höher liegt im Vergleich zur T-Zell-Reaktivität auf Stimulation mit IE-1. Eine kleine italienische Studie mit 20 transplantierten Patienten kam zu einem ähnlichen Ergebnis: Hier wurden pp65 und IE-1 spezifische CD4⁺ - und CD8⁺ T-Zellen mit CMV-infizierten dendritischen Zellen stimuliert und die T-Zellzahl anschließend gemessen. Es zeigte sich eine statistisch signifikant größere Immunreaktion der CD4⁺-T-Zellen auf das pp65- als auf das IE-1-Antigen (75). Eine Studie von Bunde et. al. kam zu einem ähnlichen Ergebnis: Hier fiel die T-Zellaktivierung nach Stimulation mit dem pp65- Antigen deutlich ausgeprägter aus als nach Stimulation mit dem IE-1-Antigen (76).

4.3.4. ELISpot als Prädiktor für eine CMV-Infektion?

Weiterhin wurde untersucht, ob die präoperative Spotanzahl als Prädiktor für eine CMV-Infektion im postoperativen Verlauf dienen kann. Hypothetisch müssten Patienten mit weniger Spots über eine schlechtere CMV-spezifische Immunantwort verfügen und für eine CMV-Infektion anfälliger sein.

Anhand der vorliegenden Daten konnte kein signifikanter Unterschied in der präoperativen IE-1-, und pp65 Spotanzahl (IE-1 p=0,795, pp65 p=0,552) hinsichtlich einer CMV-Infektion festgestellt werden.

Im Gegensatz dazu konnten andere Autoren eine signifikante Korrelation zwischen der Spotanzahl und der Häufigkeit von CMV-Infektionen nachweisen: In der bereits erwähnten Studie von Bunde et. al. mit insgesamt 27 Patienten erlitten jene mit vielen IE-1-Spots deutlich

seltener eine CMV-Infektionen, als Patienten mit vielen pp65-Spots, sodass eine hohe IE-1-Spotanzahl als protektiver Faktor identifiziert wurde (76).

In einer Studie von Bestard et. al. mit 137 nierentransplantierten Patienten wurde gezeigt, dass seropositive Empfänger mit wenigen IE-1-Spots präoperativ signifikant häufiger CMV-Infektionen nach der Transplantation entwickelten, als Patienten mit präoperativ hoher Spotanzahl (77). Die Autoren vermuten, dass die medikamentöse T-Zell-Depletion, die bei der Nierentransplantation durchgeführt wird, die Zahl der IE-1-spezifischen T-Zellen deutlich reduziert. Das Immediate Early Protein (IE-1) spielt eine entscheidende Rolle in der frühen Replikationsphase des Virus, und eine suffiziente T-Zell-Antwort gegen dieses Protein scheint für eine adäquate CMV Kontrolle post transplantationem unerlässlich zu sein (78).

Eine weitere Studie bei Nierentransplantierten konnte zeigen, dass ein präoperativ durchgeführter ELISpot zwar nicht durch den positiven Vorhersagewert (engl. Positive predictive Value, PPV) für eine CMV-Infektion nach Transplantation genutzt werden kann (PPV pp65= 37%, PPV IE-1=35%). Allerdings konnte sowohl für pp65 (NPV =94%) als auch IE-1 (NPV=93%) ein hoher negativer Vorhersagewert (negative predictive Value, NPV) erzielt werden (79). Seropositive Patienten mit präoperativ hohen Spotzahlen entwickelten also seltener CMV-Infekte nach der NTX.

Eine 2018 veröffentlichte koreanische Studie kommt zu dem Ergebnis, dass bei NTX Patienten mit Risiko D+/R+ oder D-/R+ ein negativer pp65 ELISpot ein unabhängiges Risiko für eine CMV Infektion darstellt (80).

Die fehlende Signifikanz der eigenen Ergebnisse könnte auch durch niedrige Patientenzahl in dieser Subgruppe und begründet werden: Von 12 seropositiven Patienten konnten präoperativ die ELISpot-Daten ausgewertet werden. Hiervon infizierten sich 4 Patienten nach Transplantation mit CMV.

Auch wenn wir anhand der vorliegenden Daten nicht zeigen konnten, dass sich die präoperativen Spots als Marker für eine CMV-Infektion eignen, gibt es in der Literatur Hinweise, dass der ELISpot hierfür genutzt werden könnte (76)(79)(80). Da sich die Ergebnisse der genannten Studien vor allem auf Patienten nach einer NTX beziehen, muss noch untersucht werden, ob sich diese auch auf die Lebertransplantation übertragen lassen.

4.3.5 Einwirkung der Immunsuppression auf die Spotanzahl

Die Immunsuppression stellt in der klinischen Praxis nach wie vor eine große Herausforderung dar, da die individuell notwendige Dosis unterschiedlich ausfällt und nur über die Serum-Talspiegel eingestellt wird. Daher erscheint es sinnvoll, die direkte Auswirkung der Immunsuppression auf die T-Zell-Aktivität zum Beispiel mittels ELISpots zu untersuchen. Die meisten Patienten im eigenen Kollektiv erhielten ein Calcineurin-Inhibitor basiertes Schema, ggf. in Kombination mit einem weiteren immunsuppressiven Medikament. Medikamente wie Urbason, Everolimus, oder MMF wurden nie als Monotherapie gegeben, was eine sinnvolle Untersuchung der Auswirkung der einzelnen Immunsuppression auf die Spotzahlen nur begrenzt, möglich. Cyclosporin wurde als Alternative für Tacrolimus (z.B. bei Tacrolimus-Unverträglichkeit) benutzt. Da von den Patienten mit Spots nur wenige Cyclosporin zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten (3. Monat n=1, 6. Monat n=2 und 12. Monat n=1) einnahmen, konnte eine Untersuchung nicht sinnvoll durchgeführt werden.

Von den 81 untersuchten Patienten erhielten die meisten Patienten Tacrolimus. Bei Entlassung erhielten 57, nach 3 Monaten 59, nach 6 Monaten 58 und nach einem Jahr 59 Patienten Tacrolimus entweder als Monotherapie oder in Kombination mit weiteren Immunsuppressiva. Die notwendige Dosis von Tacrolimus wurde abhängig vom Talspiegel angepasst.

Wir konnten zeigen, dass der Tacrolimus-Talspiegel zu keinem Messzeitpunkt (Monat 3,6,12) mit der IE-1-Spotanzahl korreliert.

Vergleichbare Studien zum Einfluss der Immunsuppression auf die CMV-spezifische T-Zell-Immunität im Rahmen von Lebertransplantationen liegen nicht vor. Hypothetisch müsste die Spotanzahl beeinflusst werden, da die verschiedenen Immunsuppressiva die T-Zell Proliferation auf unterschiedlichen Wegen inhibieren.

In der bereits erwähnten Studie von Stravanova et. al konnte gezeigt werden, dass die T-Zell-Depletion bei 24 Patienten nach Nierenlebenspende keinen Einfluss auf die CMV-spezifische T-Zell-Immunität hatte (72). Die CMV-spezifische Immunität wurde in der Studie ebenfalls mittels ELISpot getestet. Die Autoren vermuten, dass der mangelnde Einfluss in der lebenslangen Persistenz der CMV-spezifischen Memory-T-Zellen begründet liegt. In einer anderen Studie konnten Pearl et. al. zeigen, dass die residualen T-Gedächtnis-Zellen resistent gegenüber einer T-Zell-Depletion zu sein scheinen (81). Allerdings geht aus der Studie nicht hervor, ob CMV-spezifische T-Gedächtniszellen hiervon auch betroffen sind, zudem wurde in den Studien vor allem der Einfluss der T-Zell-depletierenden Immunsuppression untersucht. Eine Korrelation zwischen Calcineurin-Inhibitoren und der Spotanzahl wurde nicht untersucht.

Weiterhin beziehen sich vorliegenden Daten auf die Nierentransplantation, und können nicht unbedingt auf die Lebertransplantation übertragen werden. Anhand der vorliegenden Daten scheint keine Korrelation zwischen Tacrolimus und den Spots zu bestehen.

4.4. Limitationen

Zunächst muss erwähnt werden, dass es sich in der vorliegenden Arbeit um eine retrospektive Analyse handelt, weshalb sie in der gerade in der Datenerhebung einer Stichprobenverzerrung (engl. Selection Bias) unterliegen kann. Die Daten wurden Arztbriefen aus der LTX-Nachsorge, Laborbefunden und dem Spendenreport von Eurotransplant entnommen. Da die Erfassung der Studiendaten im Rahmen der regulären Nachsorge erfolgte, war eine exakte Datenerhebung zu fixen Zeitpunkten (Monat 3,6,12) nicht immer möglich.

4.5. Ausblick auf zukünftige Strategien

CMV ist eine infektiologische Herausforderung nach Organtransplantation und die adäquate Prävention und Therapie ist nach wie vor Gegenstand der Forschung.

Es konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass eine CMV-Infektion nach Lebertransplantation einen signifikanten Einfluss auf die Krankenhausverweildauer hat und das Überleben von Patienten während des stationären Aufenthalts nach Transplantation signifikant reduziert. Auch wenn ein Nutzen einer CMV-Prophylaxe grundsätzlich belegt ist (59), bleibt unklar, ob seropositive Empfänger, die ein seropositives Organ erhalten, ebenfalls von einer Prophylaxe profitieren. Weitere Studien sollten hierzu durchgeführt werden, um das CMV-Infektionsrisiko weiter zu individualisieren. Um das individuelle Risiko weiter zu stratifizieren, könnte die Bestimmung der CMV-spezifischen Immunität, z.B. mittels ELISpot, eine wichtige Rolle spielen. Auch wenn wir nicht zeigen konnten, dass sich der ELISpot zur Risikoeinschätzung bei der Lebertransplantation eignet, ermutigen die Ergebnisse nach der Nierentransplantation, in einer größer angelegten Studie den Nutzen der Spots im Rahmen von Lebertransplantationen zu prüfen, um die Datenlage weiter zu verbessern.

4.6. Zusammenfassung

Wir haben eine retrospektive Analyse zu CMV-Infektionen nach Lebertransplantation in der Klinik für Allgemein-, Viszeral und Transplantationschirurgie an der Universitätsmedizin Mainz durchgeführt und die ELISpot Daten von 39 lebertransplantierten Patienten ausgewertet.

Wir konnten zeigen, dass CMV einen signifikanten Einfluss auf die Mortalität ($p=0,006$) und Krankenhausverweildauer ($p=0,001$) hat. Insgesamt wurden 21 „echte“ CMV-Infektionen beobachtet, hiervon 6 (7,4%) in der Gruppe mit hohem Infektionsrisiko, 14 (17,2%) in der Gruppe mit mittlerem Risiko und eine Infektion (1,2%) in der Gruppe mit niedrigem Risiko. Die Vermeidung einer CMV-Infektion ist ein wichtiger Bestandteil in der Versorgung der Patienten nach Lebertransplantation. Mit der Absicht, das individuelle Infektionsrisiko weiter zu stratifizieren, wurde untersucht, ob ein präoperativ durchgeführter ELISpot zur Risikoeinschätzung für eine CMV-Infektion beitragen kann. Wir konnten keinen signifikanten Unterschied der Spots zwischen Patienten mit CMV-Infektion und solchen ohne CMV-Infektion beobachten (IE1 präoperativ $p=0,795$, pp65 präoperativ 0,552).

Ebenso konnten wir zeigen, dass sich der MELD-Score zwischen Patienten mit und ohne CMV-Infektion nicht signifikant unterschied. Wir haben eine der ersten Studien zur Nutzung von ELISpots im Rahmen von Lebertransplantationen durchgeführt und konnten zeigen, dass die Immunreaktivität innerhalb der ersten 3 Monate nach Lebertransplantation statistisch signifikant steigt (IE-1 $p=0,013$, pp65 $p=0,003$). Grund hierfür könnte die Genesung der schwerkranken Leberpatienten nach der Transplantation sein. Aufbauend auf unseren Ergebnissen, empfehlen wir weitere Studien zur Nutzung des ELISpots nach Lebertransplantation.

5.0 Literaturverzeichnis

1. Griffiths P, Reeves M. Pathogenesis of human cytomegalovirus in the immunocompromised host. *Nat Rev Microbiol.* Dezember 2021;19(12):759–73.
2. Zuhair M, Smit GSA, Wallis G, Jabbar F, Smith C, Devleesschauwer B, u. a. Estimation of the worldwide seroprevalence of cytomegalovirus: A systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol.* Mai 2019;29(3):e2034.
3. Lachmann R, Loenenbach A, Waterboer T, Brenner N, Pawlita M, Michel A, u. a. Cytomegalovirus (CMV) seroprevalence in the adult population of Germany. *Nevels M, Herausgeber. PLOS ONE.* 25. Juli 2018;13(7):e0200267.
4. Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection: CMV seroprevalence. *Rev Med Virol.* Juli 2010;20(4):202–13.
5. Zytomegalievirus-Infektion. Robert Koch Institut.
6. Dioverti MV, Razonable RR. Cytomegalovirus. *Hayden RT, Wolk DM, Carroll KC, Tang YW, Herausgeber. Microbiol Spectr.* 12. August 2016;4(4):4.4.20.
7. Ross SA, Boppana SB. CMV. In: *Hematology, Immunology and Infectious Disease: Neonatology Questions and Controversies* [Internet]. Elsevier; 2012 [zitiert 24. Juni 2022]. S. 171–88. Verfügbar unter: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9781437726626000110>
8. Varnum SM, Streblov DN, Monroe ME, Smith P, Auberry KJ, Pařsa-Tolic L, u. a. Identification of Proteins in Human Cytomegalovirus (HCMV) Particles: the HCMV Proteome. *J VIROL.* 2004;78:7.
9. Tomtishen III JP. Human cytomegalovirus tegument proteins (pp65, pp71, pp150, pp28). *Virol J.* Dezember 2012;9(1):22.
10. Isaacson MK, Compton T. Human Cytomegalovirus Glycoprotein B Is Required for Virus Entry and Cell-to-Cell Spread but Not for Virion Attachment, Assembly, or Egress. *J Virol.* 15. April 2009;83(8):3891–903.
11. Sinzger C, Grefte A, Plachter B, Gouw ASH, The TH, Jahn G. Fibroblasts, epithelial cells, endothelial cells and smooth muscle cells are major targets of human cytomegalovirus infection in lung and gastrointestinal tissues. *J Gen Virol.* 1. April 1995;76(4):741–50.
12. Ogawa-Goto K, Tanaka K, Gibson W, Moriishi E, Miura Y, Kurata T, u. a. Microtubule Network Facilitates Nuclear Targeting of Human Cytomegalovirus Capsid. *J Virol.* August 2003;77(15):8541–7.
13. Jean Beltran PM, Cristea IM. The life cycle and pathogenesis of human cytomegalovirus infection: lessons from proteomics. *Expert Rev Proteomics.* Dezember 2014;11(6):697–711.
14. Sinclair J, Sissons P. Latency and reactivation of human cytomegalovirus. *J Gen Virol.* 1. Juli 2006;87(7):1763–79.
15. Alwine JC. The Human Cytomegalovirus Assembly Compartment: A Masterpiece of Viral Manipulation of Cellular Processes That Facilitates Assembly and Egress. *Condit RC, Herausgeber. PLoS Pathog.* 20. September 2012;8(9):e1002878.
16. Collins-McMillen D, Buehler J, Peppenelli M, Goodrum F. Molecular Determinants and the Regulation of Human Cytomegalovirus Latency and Reactivation. *Viruses.* 20. August 2018;10(8):444.
17. Peppenelli MA, Arend KC, Cojohari O, Moorman NJ, Chan GC. Human Cytomegalovirus Stimulates the Synthesis of Select Akt-Dependent Antiapoptotic Proteins during Viral Entry To Promote Survival of Infected Monocytes. *Frueh K, Herausgeber. J Virol.* 15. März 2016;90(6):3138–47.
18. Smith MS, Bivins-Smith ER, Tilley AM, Bentz GL, Chan G, Minard J, u. a. Roles of Phosphatidylinositol 3-Kinase and NF- κ B in Human Cytomegalovirus-Mediated Monocyte Diapedesis and Adhesion: Strategy for Viral Persistence. *J Virol.* 15. Juli 2007;81(14):7683–94.
19. Goodrum F, Caviness K, Zagallo P. Human cytomegalovirus persistence: HCMV persistence. *Cell Microbiol.* Mai 2012;14(5):644–55.
20. Söderberg-Nauclér C, Fish KN, Nelson JA. Reactivation of Latent Human

- Cytomegalovirus by Allogeneic Stimulation of Blood Cells from Healthy Donors. *Cell*. Oktober 1997;91(1):119–26.
21. Reeves M, Sinclair J. Aspects of Human Cytomegalovirus Latency and Reactivation. In: Shenk TE, Stinski MF, Herausgeber. *Human Cytomegalovirus* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2008 [zitiert 27. Juni 2022]. S. 297–313. (Compans RW, Cooper MD, Honjo T, Koprowski H, Melchers F, Oldstone MBA, u. a., Reihenherausgeber. *Current Topics in Microbiology and Immunology*; Bd. 325). Verfügbar unter: http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-77349-8_17
 22. Döcke WD, Fietze E, Syrbe U, von Baehr R, Volk HD, Prösch S, u. a. Cytomegalovirus reactivation and tumour necrosis factor. *The Lancet*. Jänner 1994;343(8892):268–9.
 23. Li X, Huang Y, Xu Z, Zhang R, Liu X, Li Y, u. a. Cytomegalovirus infection and outcome in immunocompetent patients in the intensive care unit: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. Dezember 2018;18(1):289.
 24. Meesing A, Razonable RR. New Developments in the Management of Cytomegalovirus Infection After Transplantation. *Drugs*. Juli 2018;78(11):1085–103.
 25. Fowler KB, Boppana SB. Congenital cytomegalovirus infection. *Semin Perinatol*. April 2018;42(3):149–54.
 26. Razonable RR, Humar A. Cytomegalovirus in solid organ transplant recipients—Guidelines of the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant* [Internet]. September 2019 [zitiert 29. Mai 2022];33(9). Verfügbar unter: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ctr.13512>
 27. Ljungman P, Boeckh M, Hirsch HH, Josephson F, Lundgren J, Nichols G, u. a. Definitions of Cytomegalovirus Infection and Disease in Transplant Patients for Use in Clinical Trials: Table 1. Snyderman DR, Herausgeber. *Clin Infect Dis*. 1. Jänner 2017;64(1):87–91.
 28. Razonable R. Direct and indirect effects of cytomegalovirus: can we prevent them? *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. Jänner 2010;28(1):1–5.
 29. Husain S, Pietrangeli CE, Zeevi A. Delayed onset CMV disease in solid organ transplant recipients. *Transpl Immunol*. Mai 2009;21(1):1–9.
 30. Boeckh M, Nichols WG. Immunosuppressive effects of beta-herpesviruses. *Herpes J IHMF*. Mai 2003;10(1):12–6.
 31. Cytomegalovirus. *Am J Transplant*. Oktober 2004;4:51–8.
 32. Lowance D, Neumayer HH, Legendre CM, Squifflet JP, Kovarik J, Brennan PJ, u. a. Valacyclovir for the Prevention of Cytomegalovirus Disease after Renal Transplantation. *N Engl J Med*. 13. Mai 1999;340(19):1462–70.
 33. Wang H, Peng G, Bai J, He B, Huang K, Hu X, u. a. Cytomegalovirus Infection and Relative Risk of Cardiovascular Disease (Ischemic Heart Disease, Stroke, and Cardiovascular Death): A Meta-Analysis of Prospective Studies Up to 2016. *J Am Heart Assoc*. Juli 2017;6(7):e005025.
 34. Vasilieva E, Gianella S, Freeman ML. Novel Strategies to Combat CMV-Related Cardiovascular Disease. *Pathog Immun*. 20. September 2020;5(1):240.
 35. Mikaeloff P, Calne RY. Progress in Liver Transplantation. :37.
 36. Crispe IN. Immune tolerance in liver disease. *Hepatology*. Dezember 2014;60(6):2109–17.
 37. Bamboat ZM, Stableford JA, Plitas G, Burt BM, Nguyen HM, Welles AP, u. a. Human Liver Dendritic Cells Promote T Cell Hyporesponsiveness. *J Immunol*. 15. Februar 2009;182(4):1901–11.
 38. Fu J, Xu D, Liu Z, Shi M, Zhao P, Fu B, u. a. Increased Regulatory T Cells Correlate With CD8 T-Cell Impairment and Poor Survival in Hepatocellular Carcinoma Patients. *Gastroenterology*. Juni 2007;132(7):2328–39.
 39. Keeffe EB. LIVER TRANSPLANTATION AT THE MILLENNIUM. *Clin Liver Dis*. Februar 2000;4(1):241–55.
 40. Koch M. Everolimus in liver and lung transplantation. *Drugs Today*. 2009;45(1):11.
 41. Kaminski H, Belanger J, Mary J, Garrigue I, Acquier M, Déchanet-Merville J, u. a. Effect of mTOR inhibitors during CMV disease in kidney transplant recipients: Results of a pilot retrospective study. *Microbiol Immunol*. Juli 2020;64(7):520–31.
 42. Boivin G, Quirk MR, Kringstad BA, Germain M, Jordan MC. Early effects of ganciclovir

- therapy on the quantity of cytomegalovirus DNA in leukocytes of immunocompromised patients. *Antimicrob Agents Chemother.* April 1997;41(4):860–2.
43. Pescovitz MD. Valganciclovir: Recent Progress: Valganciclovir. *Am J Transplant.* 28. April 2010;10(6):1359–64.
 44. Lizaola-Mayo BC, Rodriguez EA. Cytomegalovirus infection after liver transplantation. *World J Transplant.* 29. Juli 2020;10(7):183–90.
 45. Linares L, Sanclemente G, Cervera C, Hoyo I, Cofán F, Ricart MJ, u. a. Influence of Cytomegalovirus Disease in Outcome of Solid Organ Transplant Patients. *Transplant Proc.* Juli 2011;43(6):2145–8.
 46. Han SH, Yoo SG, Do Han K, La Y, Kwon DE, Lee KH. The Incidence and Effect of Cytomegalovirus Disease on Mortality in Transplant Recipients and General Population: Real-world Nationwide Cohort Data. *Int J Med Sci.* 2021;18(14):3333–41.
 47. Mouton CP, Bazaldua OV, Pierce B, Espino DV. Common infections in older adults. *Am Fam Physician.* 15. Jänner 2001;63(2):257–68.
 48. Hemmersbach-Miller M, Alexander BD, Pieper CF, Schmader KE. Age matters: older age as a risk factor for CMV reactivation in the CMV serostatus-positive kidney transplant recipient. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol.* März 2020;39(3):455–63.
 49. Imlay H, Limaye AP. Current Understanding of Cytomegalovirus Reactivation in Critical Illness. *J Infect Dis.* 5. März 2020;221(Supplement_1):S94–102.
 50. Selvey LA, Lim WH, Boan P, Swaminathan R, Slimings C, Harrison AE, u. a. Cytomegalovirus viraemia and mortality in renal transplant recipients in the era of antiviral prophylaxis. Lessons from the western Australian experience. *BMC Infect Dis.* Dezember 2017;17(1):501.
 51. Kim JM, Kim SJ, Joh JW, Kwon CHD, Song S, Shin M, u. a. Is cytomegalovirus infection dangerous in cytomegalovirus-seropositive recipients after liver transplantation?: CMV Infections in CMV-Seropositive LT Recipients. *Liver Transpl.* April 2011;17(4):446–55.
 52. Schliep C. Einfluss der Zytomegalievirus-Infektion auf die Morbidität nach Nierentransplantation. 2005.
 53. Falagas ME, Arbo M, Ruthazer R, Griffith JL, Werner BG, Rohrer R, u. a. CYTOMEGALOVIRUS DISEASE IS ASSOCIATED WITH INCREASED COST AND HOSPITAL LENGTH OF STAY AMONG ORTHOTOPIC LIVER TRANSPLANT RECIPIENTS¹: *Transplantation.* Juni 1997;63(11):1595–601.
 54. Kim WR, Badley AD, Wiesner RH, Porayko MK, Seaberg EC, Keating MR, u. a. THE ECONOMIC IMPACT OF CYTOMEGALOVIRUS INFECTION AFTER LIVER TRANSPLANTATION: *Transplantation.* Februar 2000;69(3):357–61.
 55. Hoppe L, Marroni CA, Bressane R, Lago L, Schiavo FL, Cigerza GC, u. a. Risk Factors Associated With Cytomegalovirus Infection in Orthotopic Liver Transplant Patients. *Transplant Proc.* Juli 2006;38(6):1922–3.
 56. Wolf S, Hoffmann VS, Sommer F, Schrempf M, Li M, Ryll M, u. a. Effect of Sirolimus vs. Everolimus on CMV-Infections after Kidney Transplantation—A Network Meta-Analysis. *J Clin Med.* 20. Juli 2022;11(14):4216.
 57. Cailhier JF, Boucher A, Béliveau C, Poirier L, Delorme J, Weiss K, u. a. CMV in kidney transplants in the tacrolimus-mycophenolate era. *Transplant Proc.* Februar 2001;33(1–2):1196–7.
 58. Sarmiento JM, Dockrell DH, Schwab TR, Munn SR, Paya CV. Mycophenolate mofetil increases cytomegalovirus invasive organ disease in renal transplant patients: MMF increases CMV invasive organ disease in renal transplant patients. *Clin Transplant.* April 2000;14(2):136–8.
 59. Kalil AC, Levitsky J, Lyden E, Stoner J, Freifeld AG. Meta-Analysis: The Efficacy of Strategies To Prevent Organ Disease by Cytomegalovirus in Solid Organ Transplant Recipients. *Ann Intern Med.* 20. Dezember 2005;143(12):870.
 60. Hodson EM, Craig JC, Strippoli GF, Webster AC. Antiviral medications for preventing cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. In: *The Cochrane Collaboration, Herausgeber. Cochrane Database of Systematic Reviews [Internet].* Chichester, UK: John

- Wiley & Sons, Ltd; 2008 [zitiert 18. Jänner 2023]. S. CD003774.pub3. Verfügbar unter: <https://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD003774.pub3>
61. Legendre CM, Norman DJ, Keating MR, Maclaine GDH, Grant DM. VALACICLOVIR PROPHYLAXIS OF CYTOMEGALOVIRUS INFECTION AND DISEASE IN RENAL TRANSPLANTATION: AN ECONOMIC EVALUATION: *Transplantation*. November 2000;70(10):1463–8.
 62. Stern M, Hirsch H, Cusini A, van Delden C, Manuel O, Meylan P, u. a. Cytomegalovirus Serology and Replication Remain Associated With Solid Organ Graft Rejection and Graft Loss in the Era of Prophylactic Treatment. *Transplantation*. 15. November 2014;98(9):1013–8.
 63. Arthurs SK, Eid AJ, Pedersen RA, Dierkhising RA, Kremers WK, Patel R, u. a. Delayed-onset primary cytomegalovirus disease after liver transplantation. *Liver Transpl*. Dezember 2007;13(12):1703–9.
 64. Singh N, Winston DJ, Razonable RR, Lyon GM, Silveira FP, Wagener MM, u. a. Effect of Preemptive Therapy vs Antiviral Prophylaxis on Cytomegalovirus Disease in Seronegative Liver Transplant Recipients With Seropositive Donors: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 14. April 2020;323(14):1378.
 65. Weigand K, Schnitzler P, Schmidt J, Chahoud F, Gotthardt D, Schemmer P, u. a. Cytomegalovirus Infection After Liver Transplantation Incidence, Risks, and Benefits of Prophylaxis. *Transplant Proc*. September 2010;42(7):2634–41.
 66. Khoury JA, Storch GA, Bohl DL, Schuessler RM, Torrence SM, Lockwood M, u. a. Prophylactic Versus Preemptive Oral Valganciclovir for the Management of Cytomegalovirus Infection in Adult Renal Transplant Recipients. *Am J Transplant*. September 2006;6(9):2134–43.
 67. Singh N, Winston DJ, Razonable RR, Lyon GM, Silveira FP, Wagener MM, u. a. Risk Factors for Cytomegalovirus Viremia following Liver Transplantation With a Seropositive Donor and Seronegative Recipient Receiving Antiviral Therapy. *J Infect Dis*. 29. März 2021;223(6):1073–7.
 68. Freedman SR, Saunders K, Plazak ME, Ravichandran BR, Saharia KK, Masters BM, u. a. Impact of high MELD scores on CMV viremia following liver transplantation. *Transpl Infect Dis* [Internet]. 10. Jänner 2023 [zitiert 20. Februar 2023]; Verfügbar unter: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tid.14001>
 69. Irvine KM, Ratnasekera I, Powell EE, Hume DA. Causes and Consequences of Innate Immune Dysfunction in Cirrhosis. *Front Immunol*. 25. Februar 2019;10:293.
 70. Kamath, Patrick S. The Model of End Stage Liver Disease (MELD). *Hepatology* 2007.
 71. Paliege · J. Bamoulid · Immunsuppression und Ergebnisse in der Nierentransplantation. *Der Urologe* 2015
 72. Stranavova L, Hrubá P, Girmanova E, Tycova I, Slavcev A, Froněk J, u. a. The Effect of Induction Therapy on Established CMV Specific T Cell Immunity in Living Donor Kidney Transplantation. *Physiol Res*. 30. April 2018;251–60.
 73. Tischer S, Dieks D, Sukdolak C, Bunse C, Figueiredo C, Immenschuh S, u. a. Evaluation of suitable target antigens and immunoassays for high-accuracy immune monitoring of cytomegalovirus and Epstein–Barr virus-specific T cells as targets of interest in immunotherapeutic approaches. *J Immunol Methods*. Juni 2014;408:101–
 74. Reischig T, Prucha M, Sedlackova L, Lysak D, Jindra P, Bouda M, u. a. Valganciclovir Prophylaxis against Cytomegalovirus Impairs Lymphocyte Proliferation and Activation in Renal Transplant Recipients. *Antivir Ther*. November 2011;16(8):1227–35.
 75. Lilleri D, Zelini P, Fornara C, Comolli G, Gerna G. Inconsistent Responses of Cytomegalovirus-Specific T Cells to pp65 and IE-1 versus Infected Dendritic Cells in Organ Transplant Recipients. *Am J Transplant*. August 2007;7(8):1997–2005.
 76. Bunde T, Kirchner A, Hoffmeister B, Habedank D, Hetzer R, Cherepnev G, u. a. Protection from cytomegalovirus after transplantation is correlated with immediate early 1–specific CD8 T cells. *J Exp Med*. 4. April 2005;201(7):1031–6.
 77. Bestard O, Lucia M, Crespo E, Van Liempt B, Palacio D, Melilli E, u. a. Pretransplant Immediately Early-1-Specific T Cell Responses Provide Protection for CMV Infection After Kidney Transplantation: Anti-CMV T Cell Response and CMV Infection. *Am J Transplant*. Juli 2013;13(7):1793–805.

78. Schachtner T, Stein M, Reinke P. CMV-Specific T Cell Monitoring Offers Superior Risk Stratification of CMV-Seronegative Kidney Transplant Recipients of a CMV-Seropositive Donor. *Transplantation*. Oktober 2017;101(10):e315–25.
79. Lúcia M, Crespo E, Melilli E, Cruzado JM, Luque S, Llaudó I, u. a. Preformed Frequencies of Cytomegalovirus (CMV)–Specific Memory T and B Cells Identify Protected CMV-Sensitized Individuals Among Seronegative Kidney Transplant Recipients. *Clin Infect Dis*. 1. Dezember 2014;59(11):1537–45.
- 80 Kim T, Lee HJ, Kim SM, Jung JH, Shin S, Kim YH, u. a. Diagnostic usefulness of the cytomegalovirus (CMV)-specific T cell-based assay for predicting CMV infection after kidney transplant. *Korean J Intern Med*. 1. März 2020;35(2):438–48.
81. Pearl JP, Parris J, Hale DA, Hoffmann SC, Bernstein WB, McCoy KL, u. a. Immunocompetent T-Cells with a Memory-Like Phenotype are the Dominant Cell Type Following Antibody-Mediated T-Cell Depletion. *Am J Transplant*. März 2005;5(3):465–74.

Danksagung

Meiner Doktormutter danke ich herzlich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und die ausgezeichnete Betreuung, ohne die ich die Arbeit nicht so schnell fertig gestellt hätte.

Besonderen Dank schulde ich auch den Labormitarbeitern, die durch Ihre Erklärungen und Korrekturen maßgeblich zu einem tieferen Verständnis des Themas beigetragen hat.

Darüber hinaus danke ich meiner Familie und meiner Partnerin für die regelmäßige Unterstützung.

Tabellarischer Lebenslauf

PERSONALIEN

Name und Vorname: Scholz, Constantin

SCHULISCHER WERDEGANG

2005 – 2013 Bertold-Gymnasium Freiburg

19.06.2013 Abitur

UNIVERSITÄRER WERDEGANG

WS 2015/2016 Beginn des Studiums der Humanmedizin
an der Universität Vilnius, Litauen

08.06.2021 Studium der Humanmedizin an der Universität Vilnius

07/2021 Approbation zum Arzt

BERUFLICHER WERDEGANG

Seit 10/2021 Assistenzarzt und wissenschaftlicher Mitarbeiter in der
Allgemein-, Viszeral und Transplantationschirurgie an der
Universitätsmedizin Mainz