

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

Immunmonitoring bei Nierentransplantierten mittels T-Track® CMV ELISpot
Eine prospektive Untersuchung

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Fabiana Fehrer
aus Mainz

Mainz, 2024

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ.-Prof. Dr. Hansjörg Schild

1.Gutachter:

2.Gutachter:

Tag der Promotion: 15.Oktober 2024

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	I
Abbildungsverzeichnis.....	III
Tabellenverzeichnis.....	IV
1 Einleitung.....	1
1.1 Nierentransplantation.....	2
1.2 Grundlagen des Immunsystems.....	3
1.3 Immunsuppression bei NTX.....	4
1.3.1 Induktionstherapie.....	4
1.3.2 Erhaltungsimmunosuppression.....	5
1.3.3 Kontrolle der Immunsuppressiva.....	5
1.4 Transplantat-Monitoring.....	6
1.5 Infektionen bei Immunsuppression.....	7
1.5.1 CMV.....	8
1.5.2 BKV.....	10
1.6 Transplantatabstoßungen.....	11
1.7 Rolle des CMV-spezifischen ELISpots für das Immunmonitoring.....	12
1.8 Ziel und Fragestellung der Studie.....	13
2 Material und Methoden.....	15
2.1.1 Studiendesign und -population.....	15
2.1.2 Studienablauf.....	15
2.1.3 Patientencharakteristika.....	16
2.1.4 Definitionen von studienspezifisch erhobenen Daten.....	16
2.1.5 CMV-Risikogruppen und -Monitoring.....	17
2.1.6 Definition von CMV-Events: CMV-Reaktivierung, -Erkrankung und selbstlimitierende Infektion.....	17
2.1.7 Datenrecherche und -erfassung.....	18
2.2 ELISpot.....	18
2.2.1 Verfahrensprinzip.....	18
2.2.2 Versuchsdurchführung.....	19
2.2.3 Versuchsauswertung.....	21
2.2.4 Statistische Auswertung.....	23
2.3 Material.....	24
2.3.1 Reagenzien und Kit.....	24
2.3.2 Zusätzliche Materialien.....	24
2.3.3 Geräte.....	24
3 Ergebnisse.....	26
3.1.1 Patientencharakteristika.....	26
3.1.2 Immunsuppression.....	26
3.2 CMV.....	29

3.2.1	Risikokonstellation.....	29
3.2.2	CMV-Prophylaxe	29
3.2.3	CMV-Events.....	30
3.2.4	Klinik und Therapie der CMV-Infektionen	30
3.3	ELISpots	32
3.3.1	Validität des T-Track® CMV ELISpots.....	32
3.3.2	IE-1 und pp65 im Verlauf.....	32
3.3.3	Verteilung der Spots.....	35
3.3.4	Immunsuppressionstherapie	36
3.3.5	ELISpot vor und nach NTX.....	38
3.4	Infektionen	40
3.4.1	Häufigkeit von Infektionen	40
3.4.2	Art der Infektionen	40
3.4.3	Monitoring von Infektionen mittels ELISpot.....	41
3.4.4	Monitoring von CMV-Reaktivierungen mittels ELISpot	44
3.4.5	Monitoring von BKV-Reaktivierungen mittels ELISpot	47
3.5	Transplantatabstoßungen	50
4	Diskussion	52
4.1	Studiendesign und zentrale Ergebnisse	52
4.2	Patientencharakteristika.....	52
4.3	Monitoring mit CMV-ELISpot.....	53
4.4	CMV-Erkrankungen und Monitoring	54
4.5	Andere Infektionen.....	57
4.6	BKV	58
4.7	Abstoßungen	58
4.8	Immunmonitoring	59
4.9	Schlussfolgerung und Ausblick	60
5	Zusammenfassung	62
6	Literaturverzeichnis.....	64
7	Danksagung	72
8	Tabellarischer Lebenslauf.....	73

Abkürzungsverzeichnis

ADPKD	Autosomal dominante polyzystische Nierenerkrankung
AP-1	Activator protein 1
ATG	Antilymphozytenserum
BKV	BK-Polyomavirus
BKVN	BK-Virusnephropathie
CMV	Cytomegalievirus
CNI	Calcineurininhibitor
DGF	Delayed graft function
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EBV	Epstein-Barr-Virus
ELISA	Festphasen-Enzyme-Linked Immunosorbent-Assay
ELISpot	Enzyme-linked-immuno-Spot
FSGS	Fokal segmentale Glomerulosklerose
GFR	Glomuläre Filtrationsrate
HBV	Hepatitis-B-Virus
HCV	Hepatitis-C-Virus
HHV-5	Gruppe 5 der humanen Herpesviren
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HLA	Humane Leukozyten Antigene
HWI	Harnwegsinfektion
IE-1	Immediate-Early-Protein-1
IFN- γ	Interferon- γ
IL-1	Interleukin-1
i.v.	Intravenös
KDIGO	Kidney Disease: Improving Global Outcomes
MMF	Mycophenolat-Mofetil
m-TOR	Mechanistic Target of Rapamycin
NF κ B	Nuclear factor of kappa B
NTX	Nierentransplantation
PBMC	Periphere mononukleäre Blutzelle
PBS	phosphatgepufferter Salzlösung
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PHA	Phytohämagglutinin
pp65	Phosphoprotein 65

PVDF

Re-NTX

RT

Tx

Polyvinylidenfluorid

Erneute Nierentransplantation

Raumtemperatur

Transplantation

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Studienablauf.....	15
Abbildung 2: Schema IFN- γ -ELISpot-Assay.....	19
Abbildung 3: PBMC.....	20
Abbildung 4: Positiver ELISpot.....	22
Abbildung 5: Negativer ELISpot.....	22
Abbildung 6: Methylprednisolon-Dosis im Verlauf.....	28
Abbildung 7: Tacrolimus-Spiegel im Verlauf.....	28
Abbildung 8: CMV-Risikokonstellation.....	29
Abbildung 9: Therapie der CMV-Infektion.....	31
Abbildung 10: IE-1- und pp65-Spots von CMV-seronegativen und CMV-seropositiven Patienten im Vergleich.....	32
Abbildung 11: IE-1 Spots im Verlauf.....	34
Abbildung 12: pp65-Spots im Verlauf.....	34
Abbildung 13: Verteilung von IE-1 und pp65.....	35
Abbildung 14: Non-, Weak- und Strong-Responder.....	36
Abbildung 15: Tacrolimus-Spiegel im Vergleich mit pp65-Spots.....	37
Abbildung 16: Methylprednisolon Dosis im Vergleich mit pp65-Spots.....	38
Abbildung 17: IE-1 vor NTX und nach 4 Wochen im Vergleich.....	39
Abbildung 18: pp65 vor NTX und nach 4 Wochen im Vergleich.....	39
Abbildung 19: ELISpots von Patienten mit und ohne Infektionen zwischen T1 und T2.....	42
Abbildung 20: ELISpots von Patienten mit und ohne Infektionen zwischen T2 und T3.....	42
Abbildung 21: ELISpots von Patienten mit und ohne Infektionen zwischen T3 und T4.....	43
Abbildung 22: ELISpots von Patienten mit und ohne Infektionen zu T4.....	44
Abbildung 23: Vergleich von Patienten mit und ohne CMV-Reaktivierung innerhalb der ersten 12 Monate nach NTX.....	45
Abbildung 24: Vergleich von Patienten mit und ohne CMV-Reaktivierung nach 4 Wochen...46	46
Abbildung 25: Vergleich von Patienten mit und ohne CMV-Reaktivierung nach 3 Monaten..46	46
Abbildung 26: Vergleich von Patienten mit und ohne CMV-Reaktivierung nach 6 Monaten..47	47
Abbildung 27: Vergleich von Patienten mit und ohne BKV-Reaktivierung nach 4 Wochen....48	48
Abbildung 28: Vergleich von Patienten mit und ohne BKV-Reaktivierung nach 3 Monaten...49	49
Abbildung 29: Vergleich von Patienten mit und ohne BKV-Reaktivierung nach 6 Monaten...49	49
Abbildung 30: Vergleich von Patienten mit und ohne Transplantatabstoßung innerhalb der ersten 4 Wochen nach NTX.....	51
Abbildung 31: Vergleich von Patienten mit und ohne Transplantatabstoßung zwischen 4 Wochen und 3 Monaten nach NTX.....	51

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Vorbereitung der Arbeitslösungen.....	20
Tabelle 2: Vorbereitung der Teststreifen.....	21
Tabelle 3: Patientencharakteristika.....	26
Tabelle 4: Immunsuppression.....	27
Tabelle 5: CMV-Reaktivierungen, selbstlimitierende und neue CMV-Infektionen.....	30
Tabelle 6: Viruslast der CMV-Reaktivierungen	31
Tabelle 7: IE-1 Spots im Verlauf	33
Tabelle 8: pp65 Spots im Verlauf.....	33
Tabelle 9: Infektionen	40
Tabelle 10: Spektrum der Infektionen	41
Tabelle 11: BKV-Events	48
Tabelle 12: Transplantatabstoßungen	50

1 Einleitung

Als häufigste Organtransplantation ist die Nierentransplantation (NTX) die Behandlung der Wahl für Patienten mit einer terminalen Niereninsuffizienz (1). Nierentransplantierte zeigen im Vergleich zu Patienten an der Hämodialyse eine höhere Lebensqualität, ein höheres Funktionsniveau und ein längeres Überleben (2, 3). Durch einen Mangel an Spenderorganen können jedoch nicht alle Patienten zeitnah nierentransplantiert werden. Zwischen der Anzahl der Patienten, die auf eine NTX warten und derer, die ein Spenderorgan erhalten, liegt eine große Diskrepanz. 2021 standen rund 7000 Patienten auf einer Warteliste und nur 1992 Nierentransplantationen wurden in Deutschland durchgeführt (4). Zudem weisen auch bei erfolgreicher Transplantation die Nierentransplantate nur eine beschränkte Lebensdauer auf. In Europa funktionieren nach erstmaliger NTX nach 16,8 Jahren noch 41 % aller postmortal gespendeten Nieren (5). Eine wichtige Ursache für das Transplantatversagen stellt die chronische Abstoßung dar (6).

Um eine Abstoßung des Organs zu unterdrücken, müssen Patienten lebenslang immunsuppressive Medikamente einnehmen. Trotz der langjährigen Weiterentwicklung der immunsuppressiven Therapie haben Immunsuppressiva einige Nebenwirkungen und Risiken für die transplantierten Patienten (7). Die immunsuppressive Therapie erhöht die Anfälligkeit des Immunsystems für bakterielle, virale (zum Beispiel Cytomegalievirus, CMV) und mykotische Infektionen (8). Zudem besteht auch ein erhöhtes Risiko für bestimmte Krebsarten, da eine unkontrollierte Vermehrung von Krebszellen durch ein geschwächtes Immunsystem möglich ist (9). Das Risiko für einen Transplantierten an einem Basaliom zu erkranken, ist beispielsweise um das Zehnfache erhöht (10). Auch Begleiterkrankungen wie Bluthochdruck, Diabetes, Osteoporose und Störungen des Fettstoffwechsels können entstehen (11).

Die genaue medikamentöse Einstellung ist hierbei entscheidend, da eine zu starke Immunsuppression das Risiko für Infektionen erhöht, wohingegen eine zu schwache Immunsuppression die Gefahr einer akuten, aber auch chronischen Abstoßung mit sich bringt. Um eine individuelle, patientenorientierte Einstellung der immunsuppressiven Medikamente gewährleisten zu können, wird empfohlen, nach Transplantationen (Tx) regelmäßig im Serum der Patienten die Talspiegel der immunsuppressiven Medikamente zu kontrollieren. Je nach Medikament, angestrebter Dosierung, sowie Zeitpunkt der Tx gibt es bestimmte Zielspiegel, die erreicht werden sollten, um eine dauerhafte Unterdrückung des Immunsystems zum Schutz vor Transplantatabstoßung zu gewährleisten. Jedoch gibt es keinen Test, der es ermöglicht, eine Aussage über den Status des Immunsystems zu treffen, welches durch die immunsuppressiven Medikamente verändert wird.

Das weit verbreitete Cytomegalievirus (CMV) wird von nahezu 60% der deutschen Bevölkerung in sich getragen (12) und kann durch eine zu starke Immunsuppression CMV-Erkrankungen verursachen. Bereits in anderen Studien konnte gezeigt werden, dass die Virusreaktivität gegen das CMV auch einen Hinweis auf das Maß der Immunsuppression geben kann (13). Durch einen CMV Enzyme-linked-immuno-Spot (ELISpot)-Assay konnte festgestellt werden, dass Patienten nach höheren Cortison-Gaben - und somit einer stärkeren Immunsuppression - eine geringere T-Zell-Reaktivität zeigten als Patienten mit niedrigerer Cortison-Gabe. T-Zellen scheinen in dieser Thematik eine Schlüsselrolle zu spielen und dienen daher auch als wichtiger Ansatzpunkt in der Diagnostik und Therapie viraler Erkrankungen.

1.1 Nierentransplantation

Die Nierentransplantation ist eine allogene Transplantation, bei der die Niere von einem genetisch unterschiedlichen Organspender der gleichen Spezies auf den Organempfänger übertragen wird (14). Hierbei handelt es sich in der Regel um eine heterotope Transplantation, bei der das Nierentransplantat in die fossa iliaca transplantiert und das erkrankte Organ in situ belassen wird. Eine Nierentransplantation kann durch eine Lebendspende oder eine postmortale Organspende erfolgen.

Es gibt einige immunologische Grundlagen und Voraussetzungen, die für eine erfolgreiche Transplantation wichtig sind. Die Allotransplantation führt dazu, dass es durch die Antigene des Spenders zu einer Histoinkompatibilität kommt. Diese Spender-Antigene werden durch den Organempfänger als fremd erkannt und eliminiert. Hierbei spielen zwei wichtigen Systeme eine essenzielle Rolle bei der Immunantwort: das AB0-System und die humanen Leukozyten Antigene (HLA-Antigene). Normalerweise führt eine AB0-Inkompatibilität zu einer unmittelbaren Abstoßung des Nierentransplantats, mit einer speziellen Vorbehandlung des Organempfängers sind aber auch AB0-inkompatible Organspenden als Lebendspenden möglich (15, 16).

Bei den HLA-Antigenen gibt es Klasse-I-Antigene, die auf fast allen kernhaltigen Organ- und Blutzellen zu finden sind. Sie dienen als Angriffspunkte für zytotoxische T-Lymphozyten und haben daher eine wichtige Rolle bei Abstoßungsreaktionen. Die Klasse-II-Antigene sind hingegen vor allem auf Makrophagen sowie aktivierten T- und B-Lymphozyten zu finden und regulieren die Stärke der Immunantwort.

Besonders wichtig sind unter anderem auch die bereits zum Zeitpunkt der Transplantation vorhandenen präformierten zytotoxischen Antikörper im Empfängerserum. Diese sind speziell

gegen HLA-Antigene des Spenders gerichtet, was im schlimmsten Fall zu einer Komplementaktivierung und einer sofortigen Organzerstörung führen kann (17).

1.2 Grundlagen des Immunsystems

Das Immunsystem hat die grundlegende Eigenschaft zwischen körperfremd und körpereigen zu unterscheiden. So kann der Körper Substanzen und Strukturen erkennen, die nicht vom Körper selbst hergestellt wurden und potenziell schädlich sein könnten, wie beispielsweise Bakterien, Viren oder Pilze (18).

Grundsätzlich wird zwischen dem erworbenen und dem angeborenen Immunsystem unterschieden. In beiden Systemen gibt es zelluläre und humorale Anteile, die die Immunantwort beeinflussen. Teile des angeborenen Immunsystems stellen vor allem physische Barrieren, Sekrete und generalisierte, schnelle Reaktionen des Körpers auf ein Antigen dar. Zur angeborenen Immunität gehören Makrophagen, Granulozyten und natürliche Killerzellen. Zum erworbenen Immunsystem zählen die weitaus spezifischer reagierenden B- und T-Zellen. Nach einem ersten Kontakt mit einem Antigen hat das erworbene Immunsystem die Fähigkeit sich zu erinnern und es können durch Gedächtniszellen direkt passende Antikörper produziert werden. T-Zellen entwickeln sich im Thymus mit dem Ziel nur noch auf Fremdkörper zu reagieren (19).

Insgesamt wirken viele komplexe, voneinander abhängige zelluläre und humorale Komponenten zusammen, um schädliche Zellen oder Fremdkörper identifizieren und bekämpfen zu können und somit den Körper vor Schäden zu schützen.

Eine Transplantation stellt eine spezielle Herausforderung für das Immunsystem dar. Die sonst hilfreichen Funktionen, wie die Unterscheidung zwischen fremd und körpereigen, führen bei einem fremden Organ zu Reaktionen des Immunsystems, die das Transplantat gefährden. Daher ist die Kontrolle des Immunsystems durch immunsuppressive Medikamente eine wichtige Komponente, um die Funktion des transplantierten Organs langfristig aufrechtzuerhalten (20).

1.3 Immunsuppression bei NTX

Mit immunsuppressiven Medikamenten werden Abwehrmechanismen des körpereigenen Immunsystems unterdrückt oder gehemmt. Indiziert ist die Gabe solcher Medikamente vor allem bei Patienten mit Transplantationen und Autoimmunerkrankungen.

Wenn das Immunsystem das transplantierte Organ durch HLA-Antigene als körperfremd betrachtet, greift es dieses an und löst somit eine Abstoßungsreaktion aus. Nur durch eine medikamentös induzierte Immunsuppression sind allogene Transplantationen möglich. Seit bei Transplantationen standardmäßig Calcineurininhibitoren (CNI) eingesetzt werden, sind die Risiken für Abstoßungsreaktionen deutlich zurückgegangen (21).

Die Standardmedikation nach NTX setzt sich meist aus einer Mehrfachtherapie mit verschiedenen Immunsuppressiva zusammen. Häufig werden drei Immunsuppressiva unterschiedlicher Substanzklassen mit verschiedenen immunologischen Angriffspunkten kombiniert: CNI, Steroide und antiproliferative Medikamente (22). Generell werden drei verschiedene Phasen der Immunsuppressionstherapie unterschieden: Induktionstherapie, initiale Therapie und Erhaltungstherapie.

1.3.1 Induktionstherapie

Eine Induktionstherapie ist eine bereits präoperativ oder unmittelbar nach NTX startende Immunsuppression. Ziel der Induktion ist es, frühe Rejektionen zu vermeiden, da diese das Risiko für chronische Transplantatverluste erhöhen können (23). Das persönliche Risikoprofil der Organempfänger sollte vor Gabe einer Induktionstherapie berücksichtigt werden. Hierbei spielen einige Faktoren eine Rolle: das transplantierte Organ, vorhandene Humane Leukozytenantigene-Antikörper (HLA-Antikörper), verlängerte kalte Ischämiezeit, Delayed graft function (DGF), Komorbiditäten, Alter und eine erneute NTX (Re-Tx). Grundsätzlich wird die Kombination aus Antikörpern gegen T-Zellen mit gering dosierten konventionellen Immunsuppressiva von der Gabe hochdosierter konventioneller Immunsuppressiva unterschieden. Als Antikörper werden Antilymphozytenserum (ATG) und Interleukin-2 (IL-2) – Rezeptorantikörper, wie Basiliximab, verwendet (22, 24).

In den KDIGO-Leitlinien wird für Patienten mit einem niedrigen immunologischen Risiko als Induktionstherapie ein Biological als Teil der initialen immunsuppressiven Therapie empfohlen und vorgeschlagen als erste Wahl Präparat hier einen IL-2-Rezeptorantagonisten einzusetzen (25). Bei einem höheren immunologischen Risiko wird der Einsatz von ATG empfohlen.

1.3.2 Erhaltungsimmunosuppression

Zu den wichtigsten Medikamenten der Erhaltungstherapie nach NTX zählen Calcineurininhibitoren (CNI), Steroide und proliferationshemmende Medikamente wie Mycophenolat-Mofetil (MMF). Die KDIGO-Leitlinien empfehlen eine Triple-Therapie mit CNI, MMF und einem Steroid. Da vor allem in den ersten drei Monaten nach NTX ein erhöhtes Risiko einer akuten Abstoßung besteht, werden in dieser Zeit höhere Dosierungen der Immunsuppressiva gegeben (24). Um dann die Nebenwirkungen, die die Immunsuppression mit sich bringt, möglichst gering zu halten, werden die Dosierungen im langfristigen Verlauf reduziert und dauerhaft eine niedrige Dosierung angestrebt (14-16).

Ein vollständiges Absetzen der Immunsuppression ist nicht empfehlenswert, da es auch im späteren Verlauf noch zu akuten oder chronischen Abstoßungen kommen kann.

Als initiale Erhaltungstherapie wird eine Kombination aus einem CNI und Proliferationshemmer mit oder ohne Steroide empfohlen. Als CNI sollte bevorzugt Tacrolimus und als Proliferationshemmer MMF eingesetzt werden. Falls ein Mechanistic Target of Rapamycin (mTOR)-Inhibitor verwendet werden sollte, wird empfohlen, dies erst nach Beginn der Transplantatfunktion zu starten (17). Im idealen Fall sollte die niedrigste Erhaltungsdosis zwei bis vier Monaten nach NTX erreicht werden und die Therapie mit einem CNI eher weitergeführt als abgesetzt werden (25).

Als weiteres wichtiges immunsupprimierendes Medikament werden Steroide gegeben. Diese haben eine breite Wirkung auf immunologische Prozesse. Sie hemmen die T-Zell-Aktivierung und die Synthese von Zytokinen wie IL-1 und IL-2. Eine hohe Dosierung der Steroide kann auch die Antikörperbildung beeinflussen sowie die Funktion von Oberflächenproteinen stören. Weitere hemmende Effekte kommen durch eine Interaktion mit proinflammatorischen Transkriptionsfaktoren, wie dem nuclear factor of kappa B (NFκB) und dem activator protein 1 (AP-1) (26). Insgesamt helfen diese Effekte dabei, eine konstante Immunsuppression zu fördern und Entzündungsreaktionen zu lindern (27). Die beginnend hohe Dosierung der Steroide wird im Verlauf langsam reduziert, um Langzeitnebenwirkungen zu vermeiden. Zudem wird empfohlen auch die Gabe von Steroiden eher fortzuführen als abzusetzen, wenn bereits länger als eine Woche damit therapiert wurde (23).

1.3.3 Kontrolle der Immunsuppressiva

Damit eine richtige Einnahme kontrolliert werden kann, sollten die Medikamentenspiegel nach NTX gemessen und die Dosis der Medikamente im Verlauf angepasst werden.

Es wird empfohlen, regelmäßig die Talspiegel der CNI im Blut zu überprüfen. Ein Talspiegel kann durch eine Blutentnahme direkt vor erneuter Medikamenteneinnahme bestimmt werden. Dies sollte in der unmittelbaren postoperativen Phase jeden zweiten Tag erfolgen, bis der Zielspiegel erreicht ist. Zudem sollten die Medikamentenspiegel auch bestimmt werden, wenn sich etwas an der Medikation verändert hat oder sich die Nierenfunktion verschlechtert hat (17). Das Monitoring der Medikamentenspiegel ist sehr wichtig, da sich jegliche Veränderungen an der Dosis, aber auch an der Transplantatfunktion darin zeigen können (28).

Der therapeutische Bereich der Immunsuppressiva unterscheidet sich je nach Medikament. Bei einer komplikationslosen NTX sollten die Talspiegel von Tacrolimus in den ersten zwei Monaten nach NTX bei 8 - 10 ng/ml liegen und im späteren Verlauf bei 5 - 8 ng/ml (29). Erfolgt die Immunsuppression mit Everolimus, wird ein Medikamentenspiegel von 3 - 8 ng/ml angestrebt (30).

Da die Patienten lebenslang auf die immunsuppressiven Medikamente angewiesen sind, um dauerhaft eine Transplantatfunktion gewährleisten zu können, ist hierbei das Management von großer Relevanz. Nicht zu vernachlässigen sind allerdings die Nebenwirkungen, die eine Immunsuppression mit sich bringt. Durch zu starke Immunsuppression kann es vor allem schneller zu Infektionen kommen.

1.4 Transplantat-Monitoring

Die regelmäßige Nachsorge der Nierentransplantierten ist sehr wichtig, um frühzeitig intervenieren zu können, sollten sich ein Infekt oder eine Abstoßung des Organs anbahnen. Gerade in der ersten Zeit nach NTX ist das Risiko für eine Abstoßung besonders hoch. Viele Studien berichten hier von einer Inzidenz akuter Abstoßungen innerhalb des ersten Jahres nach NTX zwischen 3 und 12 % (31).

Als Parameter, um die Funktion des Nierentransplantats zu überwachen, können das Serum-Kreatinin sowie die Glomeruläre Filtrationsrate (GFR) und die Untersuchung des Urins, vor allem auf eine Proteinurie, genutzt werden. Auch Ultraschalluntersuchungen der Transplantatniere sind hilfreich und notwendig, um die Nierenfunktion vollständig beurteilen zu können (25).

Bei einem anhaltenden Anstieg des Serum-Kreatinins oder einer neu aufgetretenen Proteinurie, für die es keine Erklärung gibt, ist eine Nierenbiopsie die Methode der Wahl.

1.5 Infektionen bei Immunsuppression

Gerade bei immunsupprimierten Patienten ist es schwierig, eine Infektion zu erkennen. Immunkompetente Menschen haben schnell Anzeichen und Symptome, die auf eine Infektion hinweisen, diese sind aber bei Transplantatempfängern vermindert (8).

Das Erregerspektrum ist sehr groß und eine Infektion kann durch spätes Erkennen oft schnell voranschreiten. Daher sollte eine frühzeitige Diagnose mit anschließender Therapie erfolgen.

Durch eine regelmäßige Veränderung der immunsuppressiven Medikamente ändert sich auch das Infektionsrisiko nach der NTX im Verlauf. Da die Patienten aber lebenslang Immunsuppressiva einnehmen, wird es immer ein besonderes Infektionsrisiko geben. Weil es keinen Test zur Erfassung des Infektionsrisikos gibt, wird dieses aktuell durch Faktoren wie die Intensität der Immunsuppression und/oder klinische Anzeichen, sowie die Funktionsverschlechterung des Transplantats, eingeschätzt.

Speziell kann es zu Infektionen durch den Spender kommen, generell aber auch zu Infektionen durch den Empfänger, nosokomiale oder ambulant erworbene Infektionen (8).

Die durch den Spender übertragenen Infektionen sind häufig latent in den Geweben, es kann aber auch eine aktive Infektion zum Zeitpunkt der Organspende die Ursache sein. Um dies zu vermeiden, wird aktuell eine routinemäßige Blutuntersuchung der Organspender auf die häufigsten Infektionen durchgeführt. Unter anderem wird hierbei auf Hepatitis-B- oder C-Viren getestet.

Transplantatempfänger sollten auch vor der NTX auf bereits stattgefundene Infektionen untersucht werden. Häufige Erreger sind Viren wie CMV, Epstein-Barr-Virus (EBV) oder Herpes simplex, Hepatitis-B-Virus (HBV), Hepatitis-C-Virus (HCV) sowie Humanes Immundefizienz-Virus (HIV) (32). Besonders Viren, die permanent in Wirtszellen verbleiben, können durch die anstehende Immunsuppression erneut zu Infektionen führen. Hierbei hervorzuheben sind CMV, EBV und Hepatitis B.

Im ersten Monat nach Tx können die Infektionen im Zusammenhang mit dem Spender stehen sowie durch aktive Infektionen des Empfängers bei Tx oder durch Komplikationen der Operation verursacht werden. Hierbei können sich frühe Infektionszeichen wie eine Hepatitis, Pneumonie, Enzephalitis, Leukopenie oder ein Ekzem zeigen (8).

Im Zeitraum von einem bis sechs Monaten nach NTX sind sowohl virale als auch bakterielle Erreger problematisch. Es kann vor allem gehäuft zu Harnwegsinfekten (HWI) und auch den selteneren opportunistischen Infektionen wie Pneumocystis-jirovecii-Pneumonie, Listeria monocytogenes-Infektionen, Toxoplasma gondii-Infektionen und anderen Infektionen

kommen. Daher erhalten die Patienten meist eine Trimethoprim-Sulfamethoxazol-Prophylaxe, die vor allem eine Pneumocystis-jirovecii-Pneumonie und HWIs verhindern soll (33). Generell zählen HWIs mit einem Auftreten von 25 % im ersten Jahr nach NTX zu den häufigsten Infektionen (34).

Durch eine immer geringer dosierte Immunsuppression nimmt das Infektionsrisiko sechs Monate nach NTX ab. Erleiden Patienten chronische virale Infektionen, kann es zu Transplantatschäden kommen. Dazu zählen vor allem CMV, EBV und BKV.

1.5.1 CMV

Das Cytomegalievirus ist ein sehr weit verbreitetes Virus, welches bei Erkrankung sowohl zu einem asymptomatischen als auch zu einem schwerwiegenden Verlauf mit Organbeteiligung führen kann (35). CMV stammt aus der Gruppe fünf der humanen Herpesviren (HHV-5). Es gibt nur einen Serotyp, aber viele Virusisolate, die sich genotypisch unterscheiden (36).

Das circa 180 nm große Virus besitzt eine doppelsträngige Desoxyribonukleinsäure (DNA), die von einem Kapsid umgeben ist. In der Hülle sind viruskodierte Glykoproteine eingelagert und zwischen dieser und dem Kapsid liegen Tegumentproteine. Das CMV des Menschen repliziert nur in menschlichen Zellen, wie Fibroblasten, Epithel- und Endothelzellen, sowie Makrophagen. Wie auch die anderen Herpesviren kann es nach einer Primärinfektion zu einer latenten Infektion kommen, in der das Virus nicht weiter aktiv repliziert wird, aber wenige virale Gene exprimiert werden. In Latenz bleibt das Virus in hämatopoetischen Stammzellen und Monozyten (37).

Eine Untersuchung einer Gruppe aus 24260 Personen in Deutschland ergab eine Seroprävalenz von 46 % (38). Bei Nierentransplantierten hingegen wird von einer höheren Seroprävalenz ausgegangen, was auf das höhere Alter zurückzuführen ist (39, 40).

Vor allem Kleinkinder können nach kongenitaler und postnatale CMV-Infektion größere Virusmengen ausscheiden. Somit stellt diese Gruppe ein Risiko für seronegative Frauen kurz vor der Schwangerschaft, beziehungsweise seronegative Schwangere sowie immunsupprimierte Personen dar (41).

Über infektiöse Flüssigkeiten wie Speichel, Urin, Blut oder Muttermilch kann das Virus durch Stillen, Sexualkontakte, aber auch Blutprodukte und Organtransplantate übertragen werden.

Immunkompetente Personen haben meist eine asymptomatische CMV-Infektion oder unspezifische grippeartige Symptome. Bei immungeschwächten Personen wie Neugeborenen oder Personen unter immunsuppressiver Therapie kann eine CMV-Infektion zu komplizierteren Verläufen führen. Es können Organsysteme geschädigt werden, insbesondere

die Lunge durch eine Pneumonie, die Leber, der Darm und das Auge, bei welchem es zu einer Retinitis bis zu Erblindung kommen kann (42).

Speziell bei Nierentransplantierten kann sich eine CMV-Infektion klinisch durch verschiedene Symptome äußern. Eine CMV-Erkrankung kann durch Fieber, Leukopenie, Thrombozytopenie, Myalgien oder erhöhte Leberenzyme gekennzeichnet sein. Zudem kann das Virus in Gewebe oder Organe eindringen, wie die Leber, Nieren, das Knochenmark, die Lunge, den Gastrointestinaltrakt und die Netzhaut. Die CMV-Infektion an sich kann sich aber auch indirekt in einem erhöhten Risiko für Sekundärinfektionen durch andere Krankheitserreger, wie beispielsweise andere Herpesviren, oder ein erhöhtes Risiko für eine Transplantatdysfunktion bis zur Transplantatabstoßung zeigen (43, 44). Weiterhin gibt es auch Hinweise darauf, dass CMV mit chronischen Gefäßveränderungen in Zusammenhang steht (45).

Außer der CMV-Retinitis kann eine CMV-Erkrankung nicht nur anhand klinischer Symptome diagnostiziert werden, da die Symptome sehr unspezifisch sein können. Ein erstmaliger Nachweis von CMV-Antikörpern der Gruppe IgM im Serum spricht für eine Primärinfektion. Zwischen einer Primärinfektion und einer Reaktivierung zu unterscheiden, ist nicht immer einfach. Bei einer Reaktivierung zeigt sich bei Immunkompetenten meist ein Titeranstieg der CMV-IgG-Antikörper bei negativen IgM-Antikörpern. Bei Immunsupprimierten kann eine aktive CMV-Infektion durch eine quantitative Bestimmung der Viruslast mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) festgestellt werden (46). Außerdem kann auch das Tegumentprotein pp65 in Leukozyten nachgewiesen werden (36, 47).

Bei einer vorliegenden ernsthaften Erkrankung werden die Patienten mit Virostatika, wie zum Beispiel Valganciclovir oder Ganciclovir, behandelt. Die aktive Überwachung von Patienten mittels Kontrolle der Viruslast und Gabe antiviraler Medikamente als Sekundärprophylaxe oder präemptive Therapie ist wirksam, um eine CMV-Infektion beziehungsweise eine CMV-Reaktivierung bei Transplantierten zu verhindern. Zu den verwendeten Medikamenten gehören hierbei Ganciclovir, Valganciclovir und Foscarnet (48).

Schon vor einigen Jahren wurde die Auswirkung von frühen CMV-Infektionen nach NTX untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass sowohl asymptomatische als auch symptomatische CMV-Erkrankungen in den ersten 100 Tagen nach NTX das Sterblichkeitsrisiko erhöhen (49). Gerade in den ersten Monaten nach NTX besteht ein erhöhtes Risiko für eine CMV-Reaktivierung aufgrund der hohen Immunsuppression (50).

Bei einer NTX wird vor der Tx sowohl beim Organspender als auch -empfänger der CMV-Status im Serum bestimmt. Sind sowohl Empfänger als auch Spender CMV-seronegativ (D-/R-), ist von einem niedrigen Risiko einer CMV-Erkrankung nach NTX auszugehen (low risk).

Ein intermediate risk besteht dann, wenn der Empfänger CMV-seropositiv ist und der Spender CMV-seropositiv oder -negativ (D-/R+; D+/R+). Ist nur der Spender CMV-seropositiv (D+/R-), besteht für den Empfänger ein hohes Risiko für eine CMV-Erkrankung (high risk). Studien zufolge entwickelten fast 50 % mit high risk eine CMV-Infektion (40).

Empfohlen wird in den KDIGO-Leitlinien für alle Nierentransplantatempfänger, außer Patienten mit low risk, die Gabe einer oralen Chemoprophylaxe mit Ganciclovir oder Valganciclovir für mindestens drei Monate nach Tx. Bei Patienten, die eine CMV-Erkrankung haben, wird eine wöchentliche Ermittlung der CMV-Viruslast durch eine DNA-PCR oder pp65-Antigenämie (siehe nächster Abschnitt) vorgeschlagen. Als Therapieempfehlung bei CMV-Erkrankung wird bei schwerem Verlauf eine intravenöse (i.v.) Therapie mit Ganciclovir und bei leichtem klinischen Verlauf mit Valganciclovir oral herausgegeben (25).

Der pp65-Antigen-Test ist ein weiteres Verfahren, bei dem das CMV-spezifische Antigen pp65 in Lymphozyten nachgewiesen wird. Dieses Antigen kann nur dann nachgewiesen werden, wenn eine aktive Vermehrung des CMV stattfindet, was also für eine frische CMV-Infektion spricht. Da gerade bei immunsupprimierten Patienten eine CMV-Infektion zu schwierigen Erkrankungen und Verläufen führen kann, kann der Test bei solchen Patienten noch unterstützend bei der Diagnostik sowie der anschließenden Frage nach Therapiemöglichkeiten sein (51-53).

Das immediate-early-1- Protein (IE-1) des CMV war eines der ersten CMV-spezifischen Proteine, die identifiziert werden konnten. Es erfüllt regulatorische und transaktivierende Funktionen (54). Das Protein wird mit am häufigsten von CD8-T-Zellen wiedererkannt. Daher wird es auch in Diagnostik und Studien als CMV-Marker verwendet (55).

1.5.2 BKV

1971 wurde zum ersten Mal das potenziell humanpathogene Polyomavirus BK-Virus aus einer Urinprobe eines nierentransplantierten Patienten isoliert (56). Das BK-Virus ist ein unbehülltes Virus mit einem Genom aus einer doppelsträngigen, zirkulären DNA.

Zu einer primären BK-Virusinfektion kommt es meist in der Kindheit. Symptome zeigen sich häufig in Form einer leichten Atemwegsinfektion oder Fieber (57). Bei immunkompetenten Menschen verbleibt das BK-Virus dann ohne klinische Auffälligkeiten in den Nieren. Etwa 80 % der Allgemeinbevölkerung weisen BKV-Antikörper auf, die lebenslang persistieren (58).

Bei nierentransplantierten Patienten kann es durch die Immunsuppression zu einer BKV-Reaktivierung kommen, was eine interstitielle Nephritis hervorrufen kann. Die Inzidenz von BKV-Virämien bei NTX-Patienten liegt bei etwa 13 % und bei BKV-Nephropathien (BKVN) bei

8 % (59). Das Risiko eines Transplantatverlustes infolge der Infektion ist hoch und daher ist BKV gerade für NTX-Patienten sehr relevant und sollte regelmäßig kontrolliert werden.

Zur Diagnose einer BK-Virusinfektion ist die Schätzung der viralen DNA im Urin durch eine PCR ein verwendeter Screening-Test. Hierüber wird aber nur die Information vermittelt, dass das Virus generell im Urothel vorhanden ist. Eine Bestimmung der BKV-DNA im Plasma kann mehr Auskunft geben. Eine länger als vier Wochen anhaltend positive PCR von 10^4 gEq/mL lässt eine BKVN vermuten (60). Um eine BKVN diagnostizieren zu können, ist eine Nierenbiopsie, die charakteristische Hinweise gibt, erforderlich.

Da eine BKVN meist eine Immunsuppression impliziert, ist das Therapiekonzept in der Regel die Reduktion der Immunsuppression. Hierbei besteht dann die Gefahr einer akuten Transplantatabstoßung (61).

Für alle NTX-Patienten wird empfohlen, regelmäßig mittels einer quantitativen DNA-PCR auf das BK-Virus zu untersuchen. Dies sollte monatlich in den ersten drei bis sechs Monaten nach NTX erfolgen und danach alle drei Monate bis zum Ende des ersten Jahres nach NTX. Auch bei jeder Erhöhung des Serum-Kreatinins, für die es keine Ursache gibt, sollte auf das BK-Virus untersucht werden. Liegt die BK-Viruslast anhaltend über 10000 Kopien/ml, sollte die immunsuppressive Medikation reduziert werden (25).

1.6 Transplantatabstoßungen

Von einer Transplantatabstoßung spricht man, wenn das Immunsystem des Organempfängers auf das Transplantat reagiert und dieses angreift. Neben rezidivierenden glomerulären Erkrankungen, Fibrose, CNI-Toxizität und BKVN ist die Transplantatabstoßung eine der Hauptursachen für den Verlust eines Nierentransplantats (62). Sowohl das angeborene als auch das erworbene Immunsystem spielen bei der Abstoßungsreaktion eine große Rolle. Jedoch sind die T-Zellen die Hauptzellen, die das Transplantat erkennen.

Generell kann man die Abstoßungen je nach Histopathologie und immunologischen Merkmalen unterteilen (63):

- hyperakute Abstoßung: Hierzu kommt es nach wenigen Minuten nach der Tx durch Antikörper oder eine ABO-Inkompatibilität. Aufgrund standardisierter Tests vor NTX wird dies aber nur noch selten beobachtet.
- Akute Abstoßung: Diese tritt innerhalb von Tagen bis Wochen nach der Transplantation auf, kann aber auch zu einem späteren Zeitpunkt nach Tx vorkommen. Man

unterscheidet zwischen einer Antikörper-vermittelten Abstoßung und einer T-Zell-vermittelten Abstoßung.

- Chronische Abstoßung: Sie kann sich nach mehr als zwölf Monaten nach der NTX entwickeln - entweder in Form einer chronischen Antikörper-vermittelten Abstoßung oder als eine chronische T-Zell-vermittelte Abstoßung.
- eine Mischung aus einer akuten und chronischen Abstoßung

Meist sind die Patienten mit einer Transplantatabstoßung zunächst asymptomatisch. Daher sollte bei einem plötzlichen Anstieg des Serum-Kreatinins auf mehr als 25 % des Ausgangswertes oder einer neu aufgetretenen Proteinurie an eine Abstoßung gedacht werden. Mögliche Symptome einer Abstoßung sind Fieber, Schmerzen an der Transplantatstelle, Hämaturie, Dysurie oder eine schlechter werdende arterielle Hypertonie (64).

Beim Verdacht auf eine Abstoßung sollte eine Nierenbiopsie durchgeführt werden (25), denn beweisend für eine Abstoßung ist bisher allein die histologische Analyse. Mit Hilfe der Banff-Klassifizierungen können Abstoßungen eingruppiert werden (65). Ein idealer Abstoßungsmarker in Form eines spezifisch und sensitiv auf Abstoßung reagierenden Messwertes im Blut oder im Urin steht derzeit nicht zur Verfügung.

Zur Behandlung einer akuten Abstoßung stehen die Steroidstoßtherapie, ATG und deren Kombination zur Verfügung. Bei hochgradigem klinischem Verdacht sollte bereits vor Erhalt des Biopsieergebnisses zumindest mit der Steroidtherapie begonnen werden.

Für eine akute zelluläre Abstoßung wird die Behandlung mit Steroiden empfohlen. Bei antikörpervermittelten Abstoßungen wird vorgeschlagen, mit einer Plasmapherese, einer intravenösen Immunglobulin-Gabe, Anti-CD20-Antikörpern oder Lymphozyten-depletierenden Antikörpern zu therapieren (25).

1.7 Rolle des CMV-spezifischen ELISpots für das Immunmonitoring

Die Immunsuppression kann als Nebenwirkung zu Infektionen führen, was immer noch eines der Hauptprobleme in der Transplantationsmedizin darstellt. Viele Studien zeigen, dass vor allem im ersten Jahr nach Transplantation Infektionen einen großen Einfluss auf den Verlauf nach NTX haben (66, 67), die letztendlich auch zum Transplantatverlust oder Tod führen können (68).

Überwiegend werden die Transplantatfunktion und der klinische Zustand des Patienten im klinischen Alltag genutzt, um eine Aussage über den individuellen Status des Immunsystems

unter Immunsuppression treffen zu können. Hierbei wurden bereits in vielen Studien neue Ansätze versucht, um den Status des Immunsystems genauer erfassen und somit die Immunsuppression besser modulieren zu können. Mit der ELISpot - Technik kann die Anzahl von T-Zellen gemessen werden, die vom Körper als Reaktion auf einen Virus oder ein anderes Antigen gebildet und ausgeschüttet werden (69, 70). Hierzu gibt es Studien, bei denen gezeigt wurde, dass die T-Zellen nach höheren Cortison-Gaben und somit einer stärkeren Immunsuppression eine geringere T-Zell-Reaktivität zeigten als Patienten mit niedrigerer Cortison-Gabe (13, 71). Das lässt darauf schließen, dass durch diese Tests eine Aussage über den Status des Immunsystems getroffen werden könnte. Auch wiesen einige Studien auf, dass durch T-Zell-Nachweise mit ELISpots ein erhöhtes Risiko für eine Transplantatabstoßung erfasst werden kann (72).

Da CMV als eine der häufigsten viralen Erkrankungen bei Nierentransplantatempfängern zählt, hat man sich dies schon in der Vergangenheit zu Nutzen gemacht, anhand von CMV und der Reaktion des Körpers auf CMV eine Aussage über den Umgang des Immunsystems mit der viralen Infektion treffen zu können (73-75).

1.8 Ziel und Fragestellung der Studie

Ein Test, um den Grad der Immunsuppression bestimmen zu können, wäre sehr hilfreich, damit die immunsuppressive Therapie individueller angepasst und angemessen dosiert werden kann. Auch frühzeitig einen Hinweis darauf zu erhalten, ob ein Patient eher infektgefährdet ist oder die Gefahr besteht, dass es zu einer Abstoßung kommt, könnte zu einer Optimierung der Immunsuppression führen. Da es aktuell, bis auf die Bestimmung der Talspiegel mancher Immunsuppressiva und der Untersuchung der Transplantatfunktion, kein standardisiertes Verfahren gibt, welches den Status der Immunsuppression erfasst, wurde in der Studie ein CMV-spezifischer ELISpot verwendet und vor dem Hintergrund der Immunsuppression nach NTX betrachtet.

In der Studie wurde Nierentransplantierten vor ihrer NTX und zu vier weiteren Zeitpunkten nach der Tx Blut abgenommen und der klinische Verlauf über zwölf Monate nach der Transplantation dokumentiert. Mit den Blutproben wurden ELISpots durchgeführt, um prospektiv festzustellen, ob sich der T-Track® CMV ELISpot dafür eignet, eine Aussage über den Status der Immunsuppression treffen zu können. Zudem wurde untersucht, ob man durch den Status der Immunsuppression sehen konnte, dass Patienten dann eher einen Infekt oder eine Abstoßung entwickelten und ob dies in Zusammenhang mit der Auswertung der ELISpots stand.

Folgende Hypothesen wurden aufgestellt:

- Der T-Track® CMV ELISpot kann die Reaktionsfähigkeit von T-Lymphozyten gegen (Virus-) Antigene mittels IFN- γ -Sekretion messen.
- Die T-Zell-Reaktivität gegen das Virusantigen korreliert mit dem Grad der Immunsuppression.
- Ein Patient mit hoher T-Zell-Reaktivität bekommt eher eine Abstoßung als einen Infekt, während ein Patient mit niedriger Reaktivität eher infektgefährdet ist.
- Das Risiko einer CMV-Reaktivierung kann mittels T-Track® CMV ELISpot eingeschätzt werden.

2 Material und Methoden

2.1.1 Studiendesign und -population

Es handelt sich um eine monozentrische und nicht-interventionelle Studie. Die Daten wurden prospektiv erhoben. Eine Randomisierung und Verblindung erfolgten nicht.

Alle einwilligungsfähigen Patienten, die eine NTX zwischen dem 01.08.2019 und dem 31.12.2021 in der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie (AVTC; Univ.-Prof. Dr. Hauke Lang) der Universitätsmedizin Mainz erhalten haben, volljährig waren und nicht im ersten Jahr nach Transplantation verstorben sind oder ein Transplantatversagen hatten, wurden in die Studie eingeschlossen.

Die Untersuchungen wurden mit Genehmigung der Ethikkommission der Landesärztekammer Rheinland-Pfalz durchgeführt (Ethiknummer: 2019-14226).

2.1.2 Studienablauf

Die Patienten, bei denen eine Nierentransplantation bevorstand, wurden in der I. Med.-Klinik und Poliklinik der Universitätsmedizin Mainz nach Zustimmung, an der Studie teilzunehmen, über einen zwölfmonatigen Zeitraum nach Transplantation untersucht. Die erste Blutentnahme erfolgte unmittelbar vor der Transplantation (vor NTX, siehe Abbildung 1). Zu vier weiteren festgelegten Zeitpunkten nach Transplantation wurden den Patienten 30 ml Heparinblut entnommen und daraus ein ELISpot mit dem T-Track® CMV Kit (Lophius Biosciences GmbH, Regensburg, Deutschland) durchgeführt.

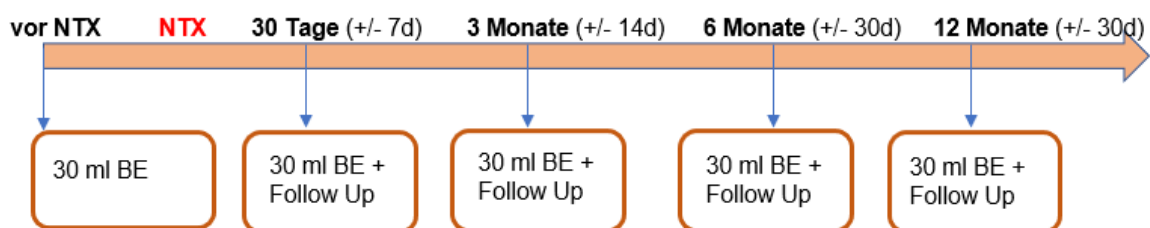


Abbildung 1: Studienablauf. BE: Blutentnahme. d: Tage.

Die Zeitpunkte der ELISpots wurden von uns beschrieben als T0 vor der NTX, T1 nach vier Wochen, T2 nach drei Monaten, T3 nach sechs Monaten und T4 nach zwölf Monaten.

2.1.3 Patientencharakteristika

Zur Charakterisierung der Patienten und der Verläufe nach Transplantation wurden folgende Variablen und Parameter erhoben:

- Geschlecht
- Alter zum Zeitpunkt der Transplantation
- Grunderkrankung
- Dialysepflichtigkeit vor NTX
- Art der Nierentransplantation: Lebendspende oder postmortale Spende
- CMV-Status und CMV-Risikokonstellation
- CMV-Prophylaxe
- Erneute NTX (Re-NTX)
- Immunsuppression nach NTX
- Abstoßungen innerhalb des Beobachtungszeitraums
- Biopsieergebnisse bei Abstoßungen
- Behandlung von Abstoßungen
- Infektionen innerhalb des Beobachtungszeitraumes
- CMV-Reaktivierungen (CMV-PCR)
- Klinik der CMV-Reaktivierungen
- BKV-Reaktivierungen (BKV-PCR)
- Serum-Kreatinin und GFR zu den vier Follow Up Zeitpunkten
- Tacrolimus- und Everolimus-Talspiegel
- Immunsuppression vor NTX

2.1.4 Definitionen von studienspezifisch erhobenen Daten

Als Abstoßungen wurden nur solche gewertet, die durch eine Nierenbiopsie beim klinischen Verdacht auf eine Abstoßungsreaktion histopathologisch gesichert wurden.

Eine Infektion legten wir als eine solche fest, wenn es laborchemische oder klinische Hinweise darauf gab. Laborchemische Zeichen einer Infektion wurden definiert als eine Erhöhung der Infektparameter, wie das C-reaktive Protein (CRP) und eine Änderung der Leukozytenzahl. Der Keimnachweis in Blutkulturen oder Urinkulturen wurde zudem als Infektionsursache berücksichtigt. Ein HWI wurde durch einen pathologischen Urinbefund mit positivem Nitrit und/oder positiver Leukozyten-Esterase sowie einer Transplantatfunktionsverschlechterung und klinischer Anzeichen wie Fieber diagnostiziert. Virale Infekte konnten durch eine PCR-Bestimmung erfasst werden, im Speziellen CMV (siehe folgender Abschnitt 2.1.5). Ein Infekt

unklarer Genese wurde definiert als ein Auftreten von Fieber und/oder erhöhten Infektparametern über mindestens zwei Tage ohne einen bakteriellen oder viralen Nachweis einer Infektionsursache.

Zu Immunsuppression vor NTX zählten alle Patienten, die im Rahmen ihrer Grunderkrankung bereits vor NTX dauerhaft Steroide einnahmen oder aufgrund ihrer Re-NTX schon Immunsuppressiva wie Steroide einnahmen.

2.1.5 CMV-Risikogruppen und -Monitoring

Die Erfassung des CMV-Risikos sowie des weiteren CMV-Monitorings entsprach dem klinischen Standard. Vor NTX wurden bei allen Patienten und Spendern im Serum die CMV-Antikörper bestimmt. Ein Nachweis der Typ IgG Antikörper zeigte eine bereits erfolgte CMV-Infektion. Wenn keine Antikörper bestimmbar waren, waren die Patienten CMV-seronegativ und hatten noch keine CMV-Infektion. Waren sowohl Spender als auch Empfänger CMV-seronegativ (D-/R-), war das Risiko für den Empfänger, durch die Transplantation eine CMV-Infektion zu bekommen, niedrig (low risk) (76). Wenn sowohl Spender als auch Empfänger CMV-seropositiv waren (D+/R+) oder der Empfänger CMV-seropositiv und der Spender CMV-seronegativ (D-/R+), bestand ein mittleres Risiko für eine CMV-Reaktivierung (intermediate risk). War nur der Spender CMV-seropositiv (D+/R-), hatte der Empfänger ein hohes Risiko für eine neue CMV-Infektion (high risk).

Den Patienten wurde nach der Transplantation in wöchentlichen Routinekontrollen in der nephrologischen Ambulanz der Universitätsmedizin Mainz EDTA-Blut entnommen und damit eine PCR zum Nachweis von CMV durchgeführt.

2.1.6 Definition von CMV-Events: CMV-Reaktivierung, -Erkrankung und selbstlimitierende Infektion

Als CMV-Events wurden CMV-Reaktivierungen, neue CMV-Infektionen und selbstlimitierende CMV-Infektionen definiert. Wenn ein Patient, der bereits vor NTX CMV-seropositiv war, zwei- oder mehrfach einen positive CMV-PCR mit einer Viruslast von mehr als 100 Kopien/ml aufwies, galt dies als CMV-Reaktivierung. Eine einmalig schwach oder niedrig positive CMV-PCR mit einer Viruslast von weniger als 100 Kopien/ml, welche nach erneuter Kontrolle anhaltend negativ war, wurde als selbstlimitierende Infektion definiert. Als CMV-Erkrankung wurde eine mehr als zweimalig positive CMV-PCR sowie vorliegende klinische Symptome wie Fieber oder anderweitiger Nachweis von CMV (zum Beispiel im gastrointestinalen Trakt durch eine endoskopische Untersuchung) definiert.

2.1.7 Datenrecherche und -erfassung

Die Datenrecherche zur Patientencharakterisierung erfolgte mithilfe des klinikinternen Computersystems SAP.

Aus den gewonnenen Daten wurde mit den Computerprogrammen „IBM SPSS Statistics 27“ und „Microsoft Office Excel 2016“ eine Datenbank für die zu untersuchende Patientenkohorte erstellt.

2.2 ELISpot

2.2.1 Verfahrensprinzip

Der ELISpot ist eine hochempfindliche Methode, um den Anteil an Zellen zu quantifizieren, die bestimmte Zytokine, Immunglobuline oder andere Zielproteine sezernieren (77, 78). Unmittelbar nach der Sekretion wird das Vorhandensein von Zytokinen erfasst. Der Test wird auf einer 96-Well-Platte durchgeführt, wobei der Boden der Wells mit einer Polyvinylfluorid (PVDF)-Membran versehen ist, welche mit Antikörpern gegen ein oder mehrere Proteine beschichtet ist. In der Mikrotiterplatte werden mononukleäre Zellen des Blutes (PBMCs) mit spezifischen Antigenen stimuliert und danach im Brutschrank bei 37°C und 5 % CO₂ über einen Zeitraum von 17 bis 24 Stunden inkubiert.

Die von den Effektorzellen sezernierten Zytokine werden unmittelbar nach der Sekretion an der Stelle an den immobilisierten Erstantikörper gebunden, an der die sezernierende Zelle sitzt. Nach der Inkubation werden die Zellen entfernt und mit einem zweiten spezifischen Antikörper, welcher an das Enzym alkalische Phosphatase gekoppelt ist, detektiert. Durch die enzymatische Umsetzung eines Substrats entsteht ein Farbstoff, der an den Sekretionsstellen ausfällt, sodass messbare Spots entstehen (siehe Abbildung 2). Ein Spot ist somit auf eine einzelne Antigen-reaktive, Zytokin-sezernierende Effektorzelle zurückzuführen. Die Spots können mit einem Computer-gestützten Lesegerät (ELISpot-Reader) gemessen und quantifiziert werden. Der ELISpot ist somit ein hoch-spezifischer und -sensitiver Test, der den Nachweis von Protein-sezernierenden Zellen auf Einzelzellniveau gewährleistet (79).

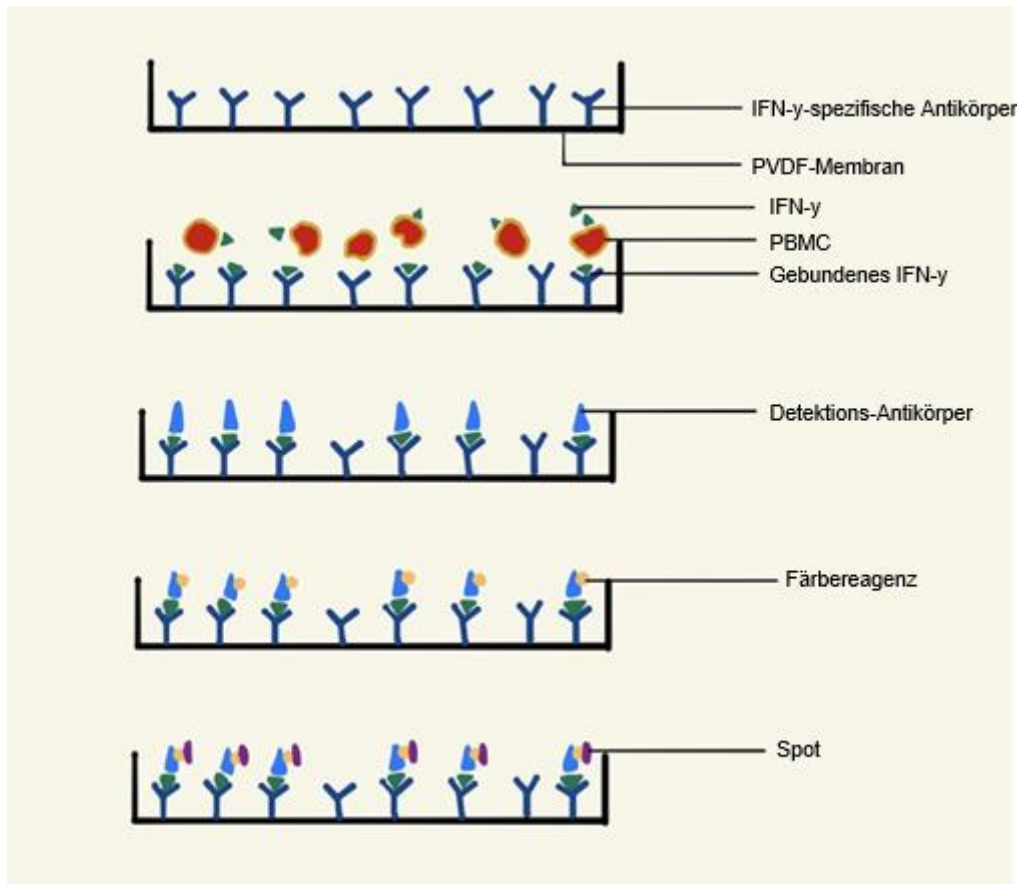


Abbildung 2: Schema IFN- γ -ELISpot-Assay. Modifiziert nach (80).

2.2.2 Versuchsdurchführung

Die ELISpots wurden mit dem T-Track® CMV Kit der Lophius Biosciences GmbH durchgeführt.

Der T-Track® CMV ELISpot wurde innerhalb von drei Tagen durchgeführt und gemessen.

Am ersten Tag wurden PBMCs aus den Blutproben der Patienten unter sterilen Bedingungen mit Hilfe einer Ficoll-Dichtegradientenzentrifugation gewonnen (siehe Abbildung 3). Hierfür wurden zunächst 7,5 ml Heparinblut mit 7,5 ml steriler phosphatgepufferter Salzlösung (PBS 1X) verdünnt und dann vorsichtig auf 15 ml Ficoll geschichtet. Nach Zentrifugation bei 880 x g ohne Bremse für 30 Minuten wurde die PBMC-Schicht steril abpipettiert, in ein neues Röhrchen überführt, sowie mit PBS auf ein Volumen von 50 ml aufgefüllt. Im Anschluss wurde dies für zehn Minuten bei 300 x g zentrifugiert und der Überstand dann verworfen. Dieser Schritt wurde wiederholt und das Zellpellet dann in sterilem AIM-V® Medium resuspendiert. Die Zellen wurden mittels Neubauer-Zählkammer und Trypanblaufärbung unter dem Mikroskop gezählt und so eingestellt, dass eine Zellzahl von 2×10^6 PBMCs pro ml AIM-V® Medium entstand.

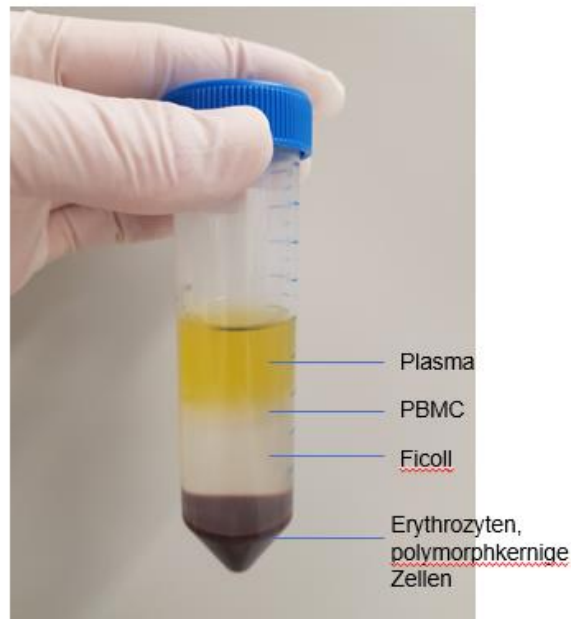


Abbildung 3: PBMC

Zunächst wurden die Arbeitslösungen, bestehend aus dem AIM-V® Medium sowie den Stammlösungen, erstellt (siehe Tabelle 1). Dann wurde die mit einem Interferon- γ (IFN- γ)–Antikörper vorbeschichtete Mikrotiterplatte mit den CMV-spezifischen Antigenen Immediate-Early-Protein-1 (IE-1) und Phosphoprotein 65 (pp65) sowie der PBMC-Positivkontrolle Phythämagglutinin (PHA) vorbereitet (siehe Tabelle 2). Pro Vertiefung wurden 2×10^5 PBMCs auf die präparierte Mikrotiterplatte gegeben und dann für 17 bis 21 Stunden in einem Feuchtinkubator inkubiert.

	Stammlösung	Medium (AIM-V®)	Arbeitslösung
Negativkontrolle	-	125 μ l	125 μ l
IE-1	5 μ l	120 μ l	125 μ l
Pp65	5 μ l	120 μ l	125 μ l
PHA	5 μ l	50 μ l	55 μ l
Operatorkontrolle	-	175 μ l	175 μ l

Tabelle 1: Vorbereitung der Arbeitslösungen

Vertiefung	Zugabe der Arbeits- und Stammlösung	Zugabe von PBMC
A	Negativkontrolle: je 50 µl Medium	je 100 µl PBMC-Lösung
B		
C	je 50 µl IE-1-Arbeitslösung	je 100 µl PBMC-Lösung
D		
E	je 50 µl pp65-Arbeitslösung	je 100 µl PBMC-Lösung
F		
G	50 µl PHA	100 µl PBMC-Lösung
H	Operatorkontrolle: 150 µl Medium	-

Tabelle 2: Vorbereitung der Teststreifen

Nach Waschen der Zellen und Zugabe der IFN- γ -spezifischen Detektions-Antikörper am nächsten Tag wurde der Teststreifen erneut für zwei Stunden bei Raumtemperatur (RT) inkubiert. Dann wurde eine Färbelösung hinzugefügt und nach sechs- bis sieben-minütiger Inkubation bei RT im Dunkeln der Teststreifen mit Leitungswasser gewaschen und anschließend über Nacht getrocknet.

Am dritten Tag wurden die Spots mit dem AID iSpot Reader System (Autoimmune Diagnostica GmbH, Straßberg, Deutschland) ausgezählt und ausgewertet.

2.2.3 Versuchsauswertung

Die im Test entstandenen Spots wurden mit einem AID iSpot Reader System ausgezählt. Nach Überprüfen der Qualitätskontrolle und Gültigkeit des Tests, wie in der Gebrauchsanweisung beschrieben (79), kann ein T-Track® CMV Test als positiv oder negativ gewertet werden. Zeigt mindestens ein Antigen-spezifisches Testergebnis mehr als zehn Spots, so ist der Test als positiv zu werten (siehe Abbildung 4 und 5).

Die Anzahl der Spots unterschied sich innerhalb der positiven Tests. Daher wurden die Patienten in drei Gruppen eingeteilt. Wir definierten als Non-Responder Patienten, die sowohl in IE-1 als auch in pp65 weniger als zehn Spots aufwiesen. Zeigten sich mehr als zehn aber weniger als 50 Spots, definierten wir diese Patientengruppe als Weak-Responder. Bei mehr als 50 Spots wurden sie als Strong-Responder gewertet.

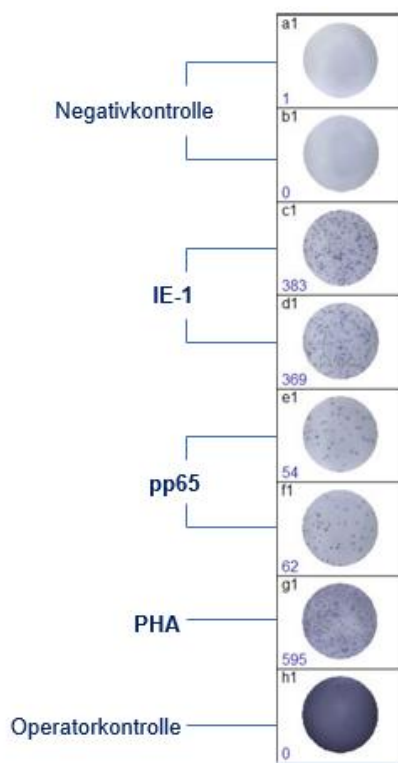


Abbildung 4: Positiver ELISpot

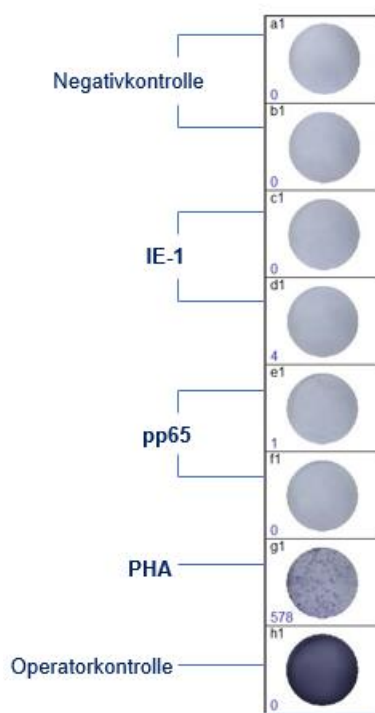


Abbildung 5: Negativer ELISpot

2.2.4 Statistische Auswertung

Mithilfe des Programms „IBM SPSS Statistics 27“ wurden die statistischen Auswertungen vorgenommen.

Der Kolmogorov-Smirnov-Test wurde angewandt, um die Daten der ELISpots auf eine Normalverteilung zu testen. Der Median, die Standardabweichung, die Spannweite, das Minimum und das Maximum wurden zur deskriptiven statistischen Analyse verwendet.

Zum Vergleich zweier Gruppen mit zwei unabhängigen Variablen wurde der nicht-parametrische Mann-Whitney-U-Test herangezogen.

Zur Bestimmung einer bivariaten Korrelation wurde der Test nach Spearman verwendet.

Alle Tests wurden bei einem p-Wert von kleiner als 0,05 als statistisch signifikant angesehen.

2.3 Material

2.3.1 Reagenzien und Kit

T-Track® CMV Kit	Lophius Biosciences GmbH
Pancoll Human (Dichte: 1,077 g/ml)	PAN-Biotech GmbH
Dulbecco's Phosphate Buffered Saline	Sigma-Aldrich®
AIM-V®+AlbuMAX® (BSA) (1X)	Gibco™
Serum Free Medium	
Trypanblau (0,5%)	Biochrom KG

2.3.2 Zusätzliche Materialien

Blutentnahmeröhrchen:	
S-Monovette Li-Heparin (7,5 ml)	Sarstedt AG & Co. KG
Zentrifugen PP-Röhrchen (50ml), Cellstar®	Greiner Bio-One GmbH

Pipetten:	
Multipipette	Eppendorf
Dispensertips (5 ml)	Ritter Ritips®
Kunststoffpipetten (10 ml, 25 ml)	Greiner Bio-One GmbH
Pipetten (10, 100, 1000 µl)	Sartorius AG
Pipettierhilfe accu-jet® pro	Brand GmbH

Pipettenspitzen:	
Standardtips (10, 100, 1000 µl)	Sarstedt AG & Co. KG
Reaktionsgefäße (1,5 und 2 ml)	Sarstedt AG & Co. KG
Neubauer Zählkammer	neoLab®

Mikrotiterplatten:	
96-well (Rundboden)	Costar®

2.3.3 Geräte

Heizplatte	MEDAX
Kühlzentrifuge 5810 R	Eppendorf
Sterile Werkbank Laminar Flow	HERAsafe®

CO₂-Inkubator

Inverses Forschungsmikroskop

Wilovert S

Vortexer Minishaker MS1

AID iSpot Reader System

Nunc™

Helmut Hund GmbH

IKA

Autoimmune Diagnostica

GmbH

3 Ergebnisse

3.1.1 Patientencharakteristika

Insgesamt konnten 71 Patienten, welche die Einschlusskriterien erfüllten, in die Studie eingeschlossen werden (siehe Tabelle 3). Die Patienten waren zum Transplantationszeitpunkt zwischen 20 und 78 Jahre alt, davon 22,5 % älter als 65 Jahre. Der überwiegende Anteil der Patienten war mit 67,6 % männlich. Als häufigste primäre Nierenerkrankung konnte die IgA-Nephropathie bei 22,5 % der Patienten identifiziert werden. 80,3 % erhielten eine postmortale Organspende und fast alle Patienten (91,5 %) waren vor der NTX dialysepflichtig.

	Empfänger
Frauen, n (%)	23 (32,4)
Alter, Median (Spannweite)	53 (20-78)
CMV-seronegativ vor NTX, n (%)	27 (38)
CMV-seropositiv vor NTX, n (%)	44 (62)
Primäre Nierenerkrankung, n (%)	
IgA-Nephropathie, n (%)	16 (22,5)
ADPKD, n (%)	11 (15,5)
FSGS, n (%)	3 (4,2)
Maligne Hypertonie, n (%)	3 (4,2)
Diabetische Nephropathie, n (%)	3 (4,2)
Schrumpfniere, n (%)	4 (5,6)
Terminale Niereninsuffizienz unklarer Genese, n (%)	8 (11,3)
Andere, n (%)	23 (32,4)
Lebendspende, n (%)	14 (19,7)
Dialysepflichtig vor NTX, n (%)	65 (91,5)
Delayed Graft function, n (%)	9 (12,7)
Re-NTX, n (%)	4 (5,6)
Immunsuppression vor NTX, n (%)	12 (16,9)

Tabelle 3: Patientencharakteristika. ADPKD: autosomal-dominante polyzystische Nierenerkrankung. FSGS: Fokal segmentale Glomerulosklerose. Re-NTX: bereits nierentransplantiertes Patient.

3.1.2 Immunsuppression

Die meisten Patienten (94,4 %) hatten initial eine dreifache Immunsuppressionstherapie nach klinischem Standard mit Tacrolimus, MMF und Methylprednisolon sowie eine

Induktionstherapie mit Basiliximab (siehe Tabelle 4). Im Verlauf erhielten zunehmend Patienten Everolimus, sodass zum zwölfmonatigen Zeitpunkt (T4) 16,9 % (n=12) die Kombination aus Tacrolimus, Everolimus und Methylprednisolon einnahmen. 2/71 der Patienten wurden zwölf Monate nach NTX mit einer dualen Immunsuppression aus Tacrolimus und Methylprednisolon therapiert.

	Initial nach NTX	T1	T2	T3	T4
Tac, MMF, Methylprednisolon, n (%)	67 (94,4)	66 (93)	61 (85,9)	55 (77,5)	53 (74,6)
Tac, Evero, Methylprednisolon, n (%)	3 (4,2)	4 (5,6)	7 (9,9)	12 (16,9)	12 (16,9)
Tac, MMF, Methylprednisolon, Eculizumab, n (%)	1 (1,4)	1 (1,4)	1 (1,4)	1 (1,4)	1 (1,4)
Tac, Methylprednisolon, n (%)	-	-	1 (1,4)	1 (1,4)	2 (2,8)
Belatacept, MMF, Methylprednisolon, n (%)	-	-	-	1 (1,4)	1 (1,4)
Evero, MMF, Methylprednisolon, n (%)	-	-	1 (1,4)	1 (1,4)	2 (2,8)
Induktion, n (%)					
Basiliximab, n (%)	67 (94,4)	-	-	-	-
Thymoglobulin, n (%)	4 (5,6)	-	-	-	-

Tabelle 4: Immunsuppression. Tac: Tacrolimus. MMF: Mycophenolat-Mofetil. Evero: Everolimus. T1: nach 4 Wochen, T2: nach 3 Monaten, T3: nach 6 Monaten, T4: nach 12 Monaten.

Alle Patienten erhielten Methylprednisolon. Zum Zeitpunkt T1 bekamen die Patienten im Median täglich 16 mg. Im Verlauf wurde, wie in Abbildung 6 ersichtlich, die Dosis reduziert, sodass 84,5 % (60/71) zu T3 noch 4 mg erhielten.

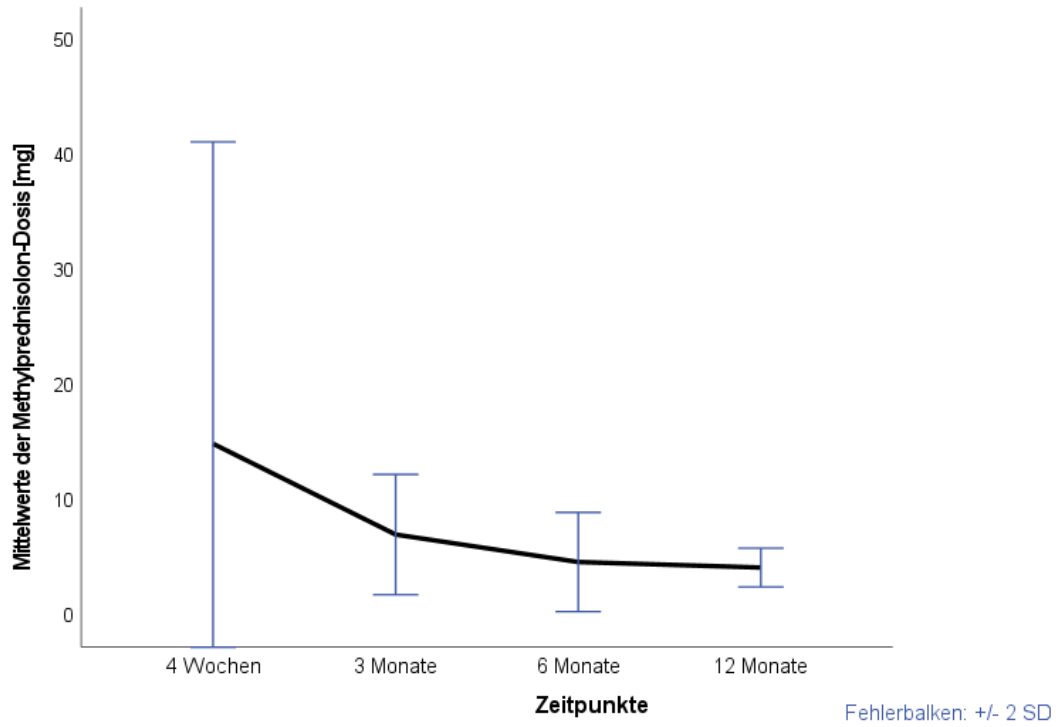


Abbildung 6: Methylprednisolon-Dosis im Verlauf mit Standardabweichung.

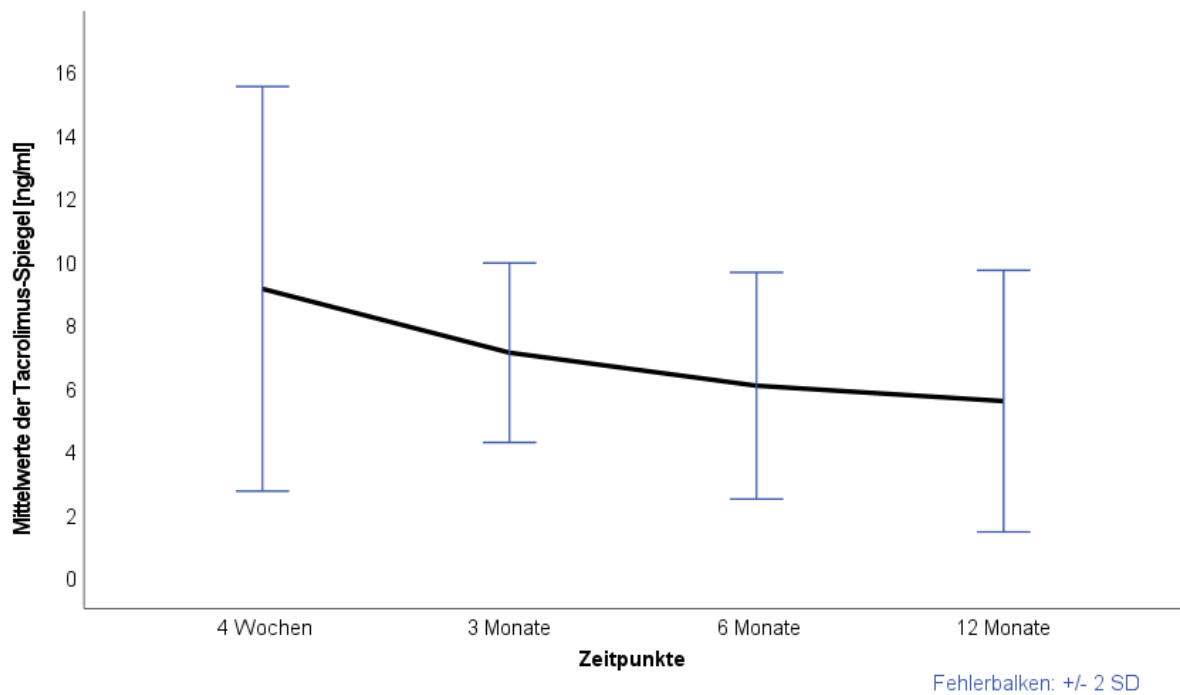


Abbildung 7: Tacrolimus-Spiegel im Verlauf mit Standardabweichung

3.2 CMV

3.2.1 Risikokonstellation

Bei allen Patienten sowie deren Organspender wurde vor NTX der CMV-Status durch die Bestimmung von CMV-IgG erhoben, um die Risikokonstellation festlegen zu können. Wie in Abbildung 8 ersichtlich, lag mit 62 % (44/71) intermediate risk als die häufigste Konstellation vor. Besonders gefährdet, durch die Transplantation eine neue CMV-Infektion zu bekommen, waren 13/71 (high risk). 19,7 % (14/71) der Patienten hatten ein niedriges Risiko, da sowohl sie als auch deren Organspender CMV-seronegativ waren.

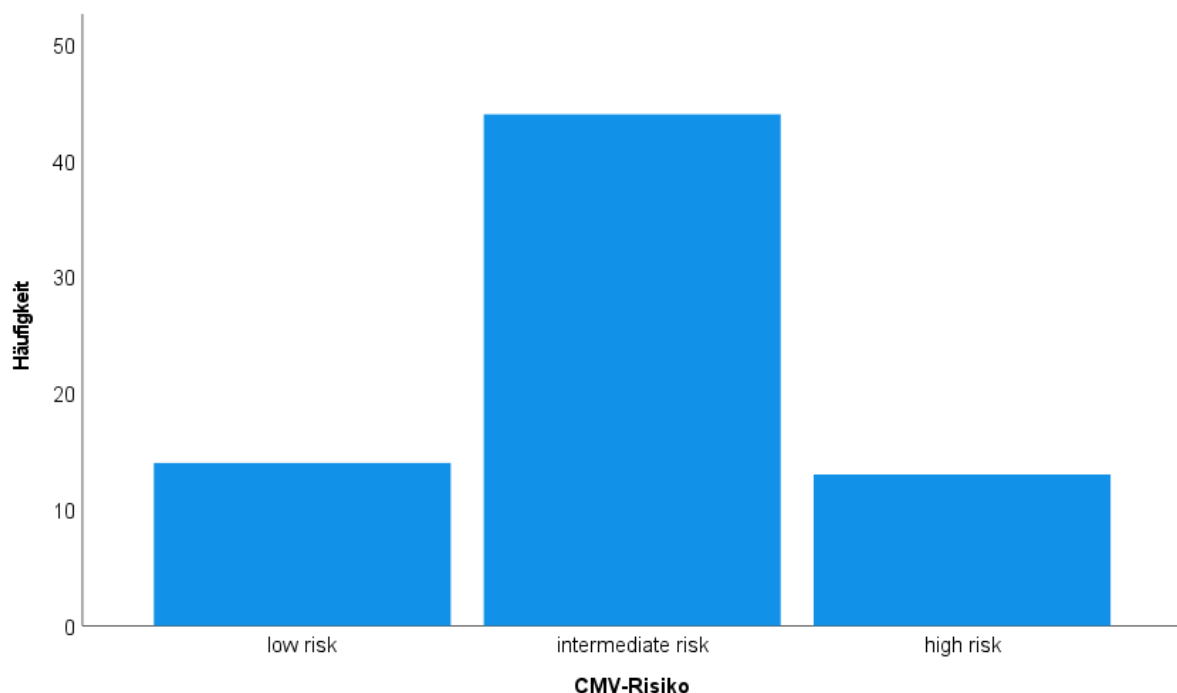


Abbildung 8: CMV-Risikokonstellation. n=71. low risk: D-/R-. intermediate risk: D+/R+ oder D-/R+. high risk: D+/R-

3.2.2 CMV-Prophylaxe

Um die Rolle der CMV-Prophylaxe beleuchten zu können, wurde die Einnahme von Valganciclovir und deren Dauer erhoben.

Aufgrund ihres geringen Risikos haben 14/71 Patienten keine Prophylaxe erhalten. Die meisten Patienten, welche auch in der intermediate risk Gruppe waren (n=42), haben Valganciclovir für drei Monate erhalten. 18,3 % (n=13) der Patienten mit dem größten Risiko, eine Infektion zu bekommen, nahmen die Prophylaxe für sechs Monate ein.

3.2.3 CMV-Events

Insgesamt hatten innerhalb der ersten zwölf Monate nach NTX 27/71 Patienten (38 %) ein CMV-Event (siehe Tabelle 5). Davon waren es bei 6/27 Patienten neue CMV-Infektionen und 13/44 Patienten (29,5 %) hatten eine CMV-Reaktivierung. Acht Patienten hatten eine CMV-Reaktivierung, wohingegen fünf Patienten zwei CMV-Reaktivierungen hatten. Bei weiteren 8/44 Patienten kam es im Verlauf zu einer selbstlimitierenden Infektion.

	T0-T1	T1-T2	T2-T3	T3-T4	Gesamt
CMV-Reaktivierung, n (%)	3 (6,8)	5 (11,4)	8 (18,2)	2 (4,5)	18
Selbstlimitierende CMV-Infektion, n (%)	2 (4,5)	4 (9,1)	2 (4,5)	-	8
Neue CMV-Infektion, n (%)	1 (3,7)	-	5 (18,5)	-	6

Tabelle 5: CMV-Reaktivierungen, selbstlimitierende und neue CMV-Infektionen. T0: vor NTX, T1: nach 4 Wochen, T2: nach 3 Monaten, T3: nach 6 Monaten, T4: nach 12 Monaten.

3.2.4 Klinik und Therapie der CMV-Infektionen

Die CMV-Infektionen verliefen meist asymptomatisch. Eine stationäre Behandlung erfolgte bei drei Patienten. Diese Patienten waren aber nicht ausschließlich wegen der CMV-Infektion stationär, sondern wegen weiterer behandlungsbedürftiger Infektionen. Symptome, die in Zusammenhang mit einer CMV-Infektion standen, waren vor allem Fieber und Leukopenie.

Die Viruslast lag im Median bei $6,4 \times 10^2$ Kopien/ml (siehe Tabelle 6). Maximal wurde eine Viruslast von $9,2 \times 10^4$ Kopien/ml erreicht.

	Viruslast [Kopien/ml]
Mittelwert	5870
Median	640
Minimum	100
Maximum	92000

Tabelle 6: Viruslast der CMV-Reaktivierungen

Mit 55,5 % der Patienten (15/27), die eine CMV-Infektion hatten, wurde der größte Anteil mit Valganciclovir therapiert (siehe Abbildung 9). Zwei Patienten erhielten stationär Ganciclovir intravenös und 37 % (10/27) der Patienten wurden nicht medikamentös therapiert.

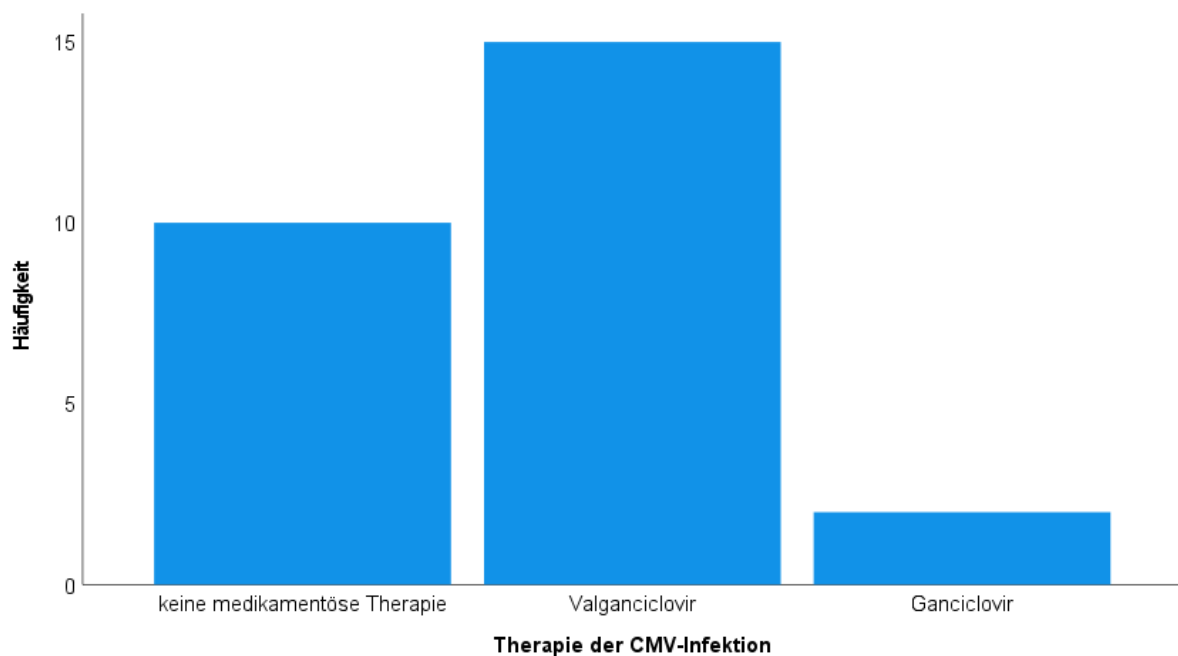


Abbildung 9: Therapie der CMV-Infektion

3.3 ELISpots

3.3.1 Validität des T-Track® CMV ELISpots

Um zu untersuchen, ob der T-Track CMV ELISpot dafür geeignet ist, bei CMV-seropositiven Patienten reaktive Effektorzellen nachweisen zu können, wurden die ELISpots dieser Patienten mit der Kontrollgruppe der CMV-seronegativen Patienten zum Zeitpunkt T0 (vor der NTX) verglichen.

Wie im Boxplot in Abbildung 10 dargestellt, zeigten sich bei den CMV-seronegativen Patienten keine IE-1- und pp65-Spots, wohingegen Spots bei der zu untersuchenden Gruppe der CMV-seropositiven Patienten zu sehen waren.

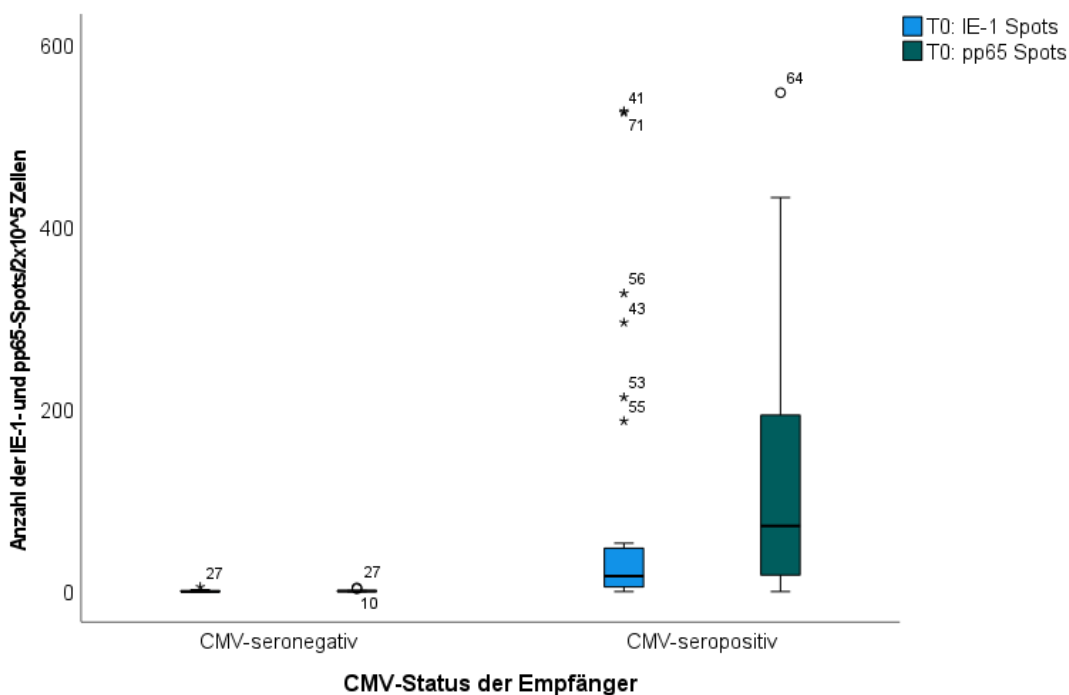


Abbildung 10: IE-1- und pp65-Spots von CMV-seronegativen und CMV-seropositiven Patienten im Vergleich. CMV-seronegativ n=18. CMV-seropositiv n=35. T0: vor NTX

3.3.2 IE-1 und pp65 im Verlauf

Da zwei verschiedene CMV-spezifische Antigene betrachtet wurden, wurden die Unterschiede der IE-1- und pp65-Spots sowie deren Verlauf analysiert.

Insgesamt konnte mit dem Kolmogorov-Smirnov -Test festgestellt werden, dass die Daten zu den Spots keiner Normalverteilung entsprachen (siehe Tabelle 7 und 8).

Zunächst war der Median der IE-1 (17 Spots) und auch der pp65-Spots (72 Spots) bei den ELISpots vor NTX höher als nach vier Wochen (IE-1: 14 Spots; pp65: 36,5 Spots). Dann nahm

die Anzahl der Spots im Verlauf zu und nach zwölf Monaten wurden mit 32 IE-Spots und 145,5 pp65-Spots bei beiden Antigenen die höchsten Werte gemessen (siehe Abbildung 11 und 12). Die Unterschiede waren nicht signifikant. Zudem ist festzustellen, dass es auch Patienten gab, die trotz ihres CMV-seropositiven Status keine Spots aufwiesen.

	IE-1 Spots T0	IE-1 Spots T1	IE-1 Spots T2	IE-1 Spots T3	ÎE-1 Spots T4
Median	17	14	12,5	16,5	32
Minimum	0	0	1	0	1
Maximum	681	851	931	798	1065
Kolmogorov- Smirnov Signifikanz	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Tabelle 7: IE-1 Spots im Verlauf. T0: vor NTX, T1: nach 4 Wochen, T2: nach 3 Monaten, T3: nach 6 Monaten, T4: nach 12 Monaten.

	pp65 Spots T0	pp65 Spots T1	pp65 Spots T2	pp65 Spots T3	pp65 Spots T4
Median	72	36,5	52	62	145,5
Minimum	0	0	0	0	1
Maximum	688	709	807	1069	1317
Kolmogorov- Smirnov Signifikanz	0,003	0,014	0,078	0,002	0,044

Tabelle 8: pp65 Spots im Verlauf. T0: vor NTX, T1: nach 4 Wochen, T2: nach 3 Monaten, T3: nach 6 Monaten, T4: nach 12 Monaten.

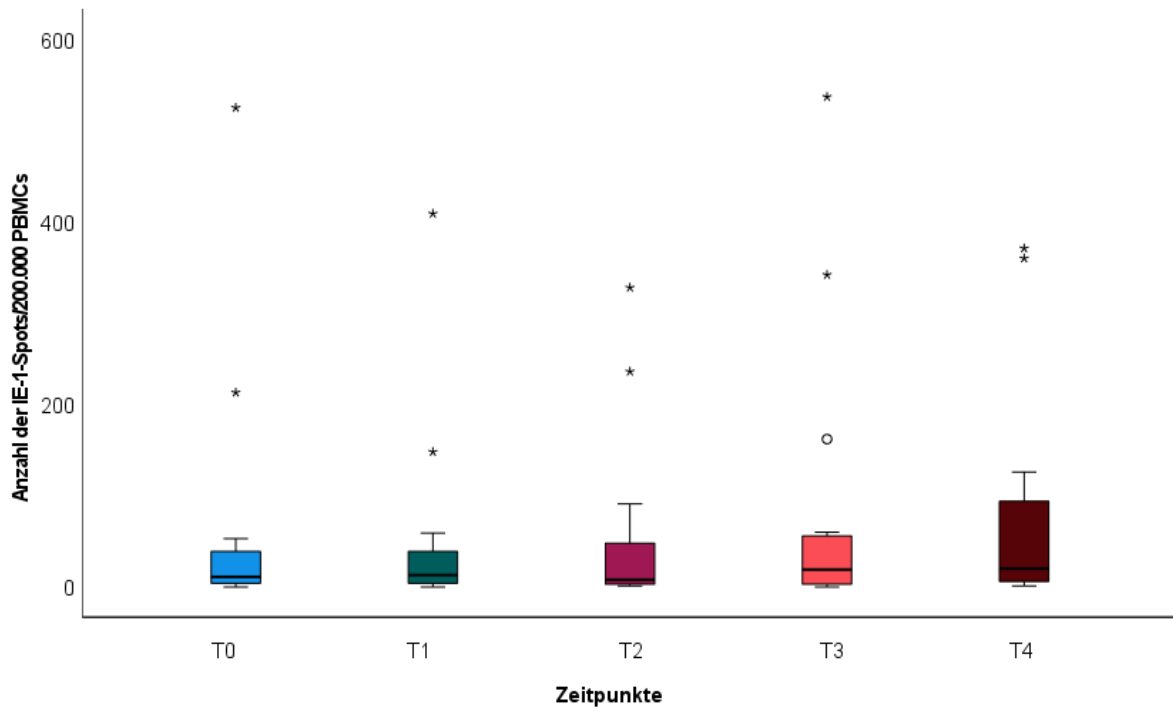


Abbildung 11: IE-1 Spots im Verlauf. n=21. T0: vor NTX; T1: nach 4 Wochen; T2: nach 3 Monaten; T3: nach 6 Monaten; T4: nach 12 Monaten

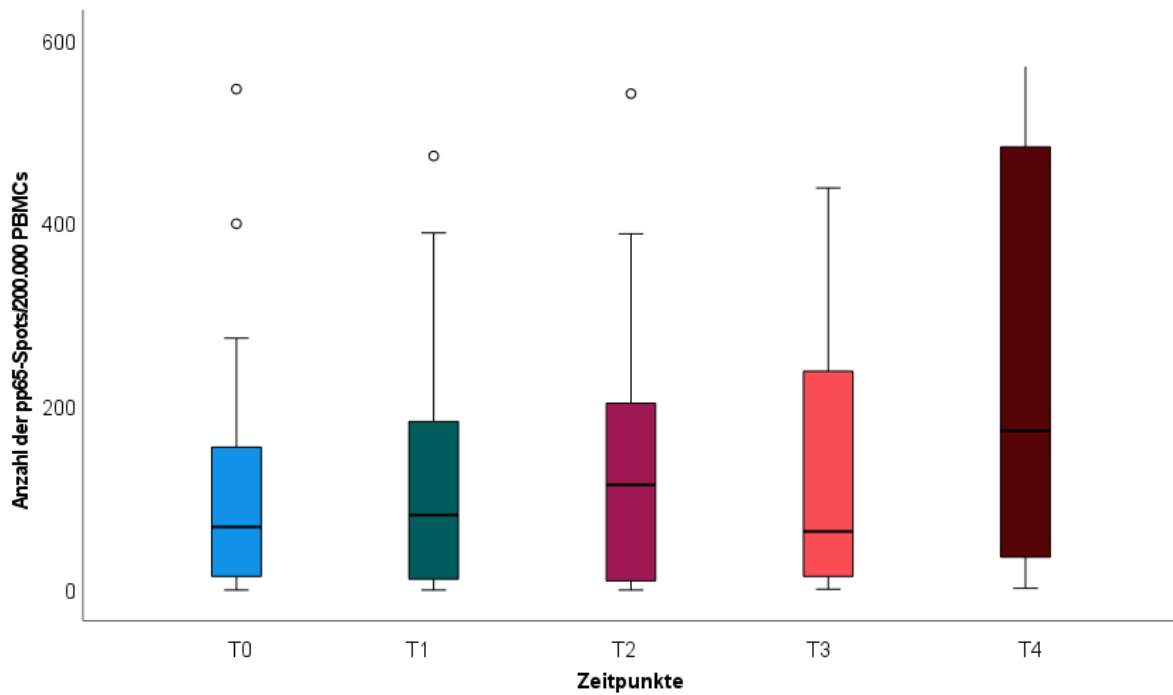


Abbildung 12: pp65-Spots im Verlauf. n=21. T0: vor NTX, T1: nach 4 Wochen, T2: nach 3 Monaten, T3: nach 6 Monaten, T4: nach 12 Monaten.

3.3.3 Verteilung der Spots

Wie in Abbildung 13 gezeigt, wiesen nicht alle Patienten, die einen positiven ELISpot hatten, auch in den beiden Antigenen IE-1 und pp65 Spots auf. 20,5 % (9/44) der Patienten hatten weder in IE-1 noch in pp65 Spots. Zwei Patienten hatten nur bei IE-1 Spots und 12/44 Patienten waren nur in pp65 positiv. Der größte Anteil (47,7 %) zeigte in beiden Antigenen Spots.

Innerhalb der verschiedenen Verteilungen der Spots unterschied sich auch deren Höhe (siehe Abbildung 14). Die neun Patienten ohne jegliche Spots definierten wir als Non-Responder. 7/44 (15,9 %) der Patienten hatten mehr als zehn, aber weniger als 50 Spots und zählten somit zu den Weak-Respondern. Der größte Anteil mit 63,6 % (28/44) hatte mehr als 50 Spots und zählte zu den Strong-Respondern.

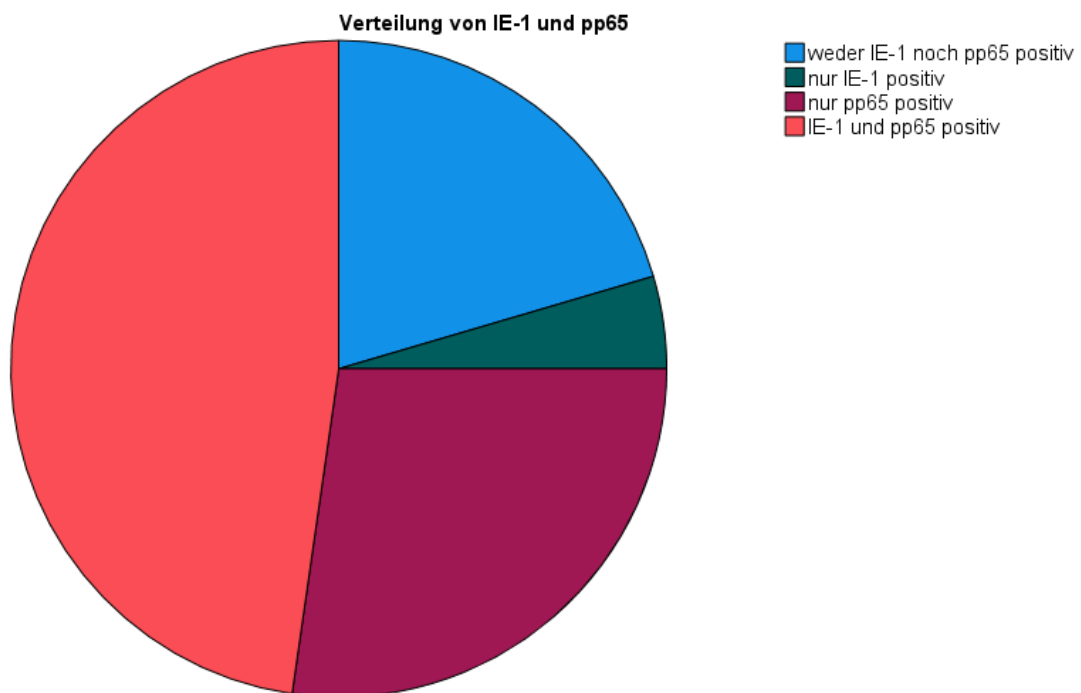


Abbildung 13: Verteilung von IE-1 und pp65

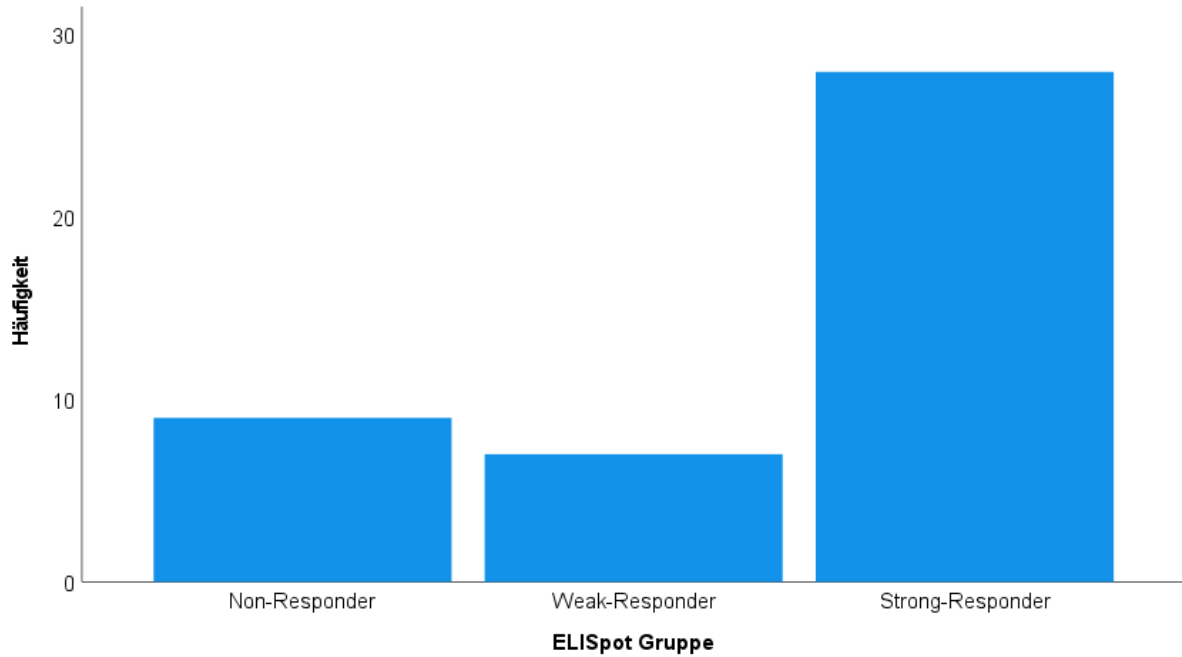


Abbildung 14: Non-, Weak- und Strong-Responder

3.3.4 Immunsuppressionstherapie

Um einen Zusammenhang zwischen der Anzahl der Spots in den ELISpots und der Höhe der Immunsuppression evaluieren zu können, wurden die Tacrolimus-Spiegel und die Spots zu den verschiedenen Zeitpunkten verglichen.

Beim Vergleich der Tacrolimus-Spiegel und der pp65-Spots zeigte sich kein Zusammenhang (siehe Abbildung 15). Die Korrelation nach Spearman betrug $r_{sp}=0,2$ und war nicht signifikant ($p=0,205$).

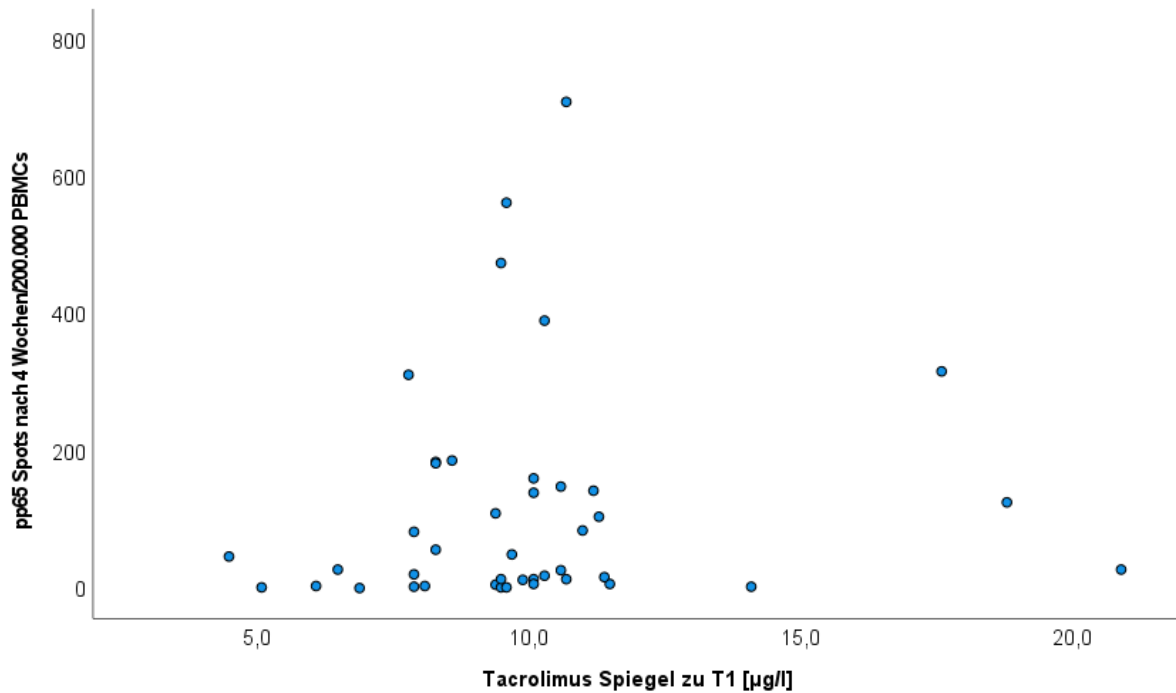


Abbildung 15: Tacrolimus-Spiegel im Vergleich mit pp65-Spots. T1: nach 4 Wochen.

Die Methylprednisolon-Dosis war zu den fünf Zeitpunkten bei den Patienten sehr ähnlich hoch. An T1 hatten zwei Patienten aufgrund von Abstoßungen mit einmal je 40 und 100 mg höhere Dosierungen, die anderen Patienten nahmen acht oder 16 mg ein. Innerhalb dieser Dosierungen waren die Spots-Anzahlen sehr unterschiedlich. Der Vergleich zwischen den pp65-Spots und der Methylprednisolon-Dosis zu T1 ist hier beispielhaft in Abbildung 16 gezeigt. Die Korrelation nach Spearman betrug $r_{sp}=0,36$ und es zeigte sich keine Signifikanz ($p=0,823$).

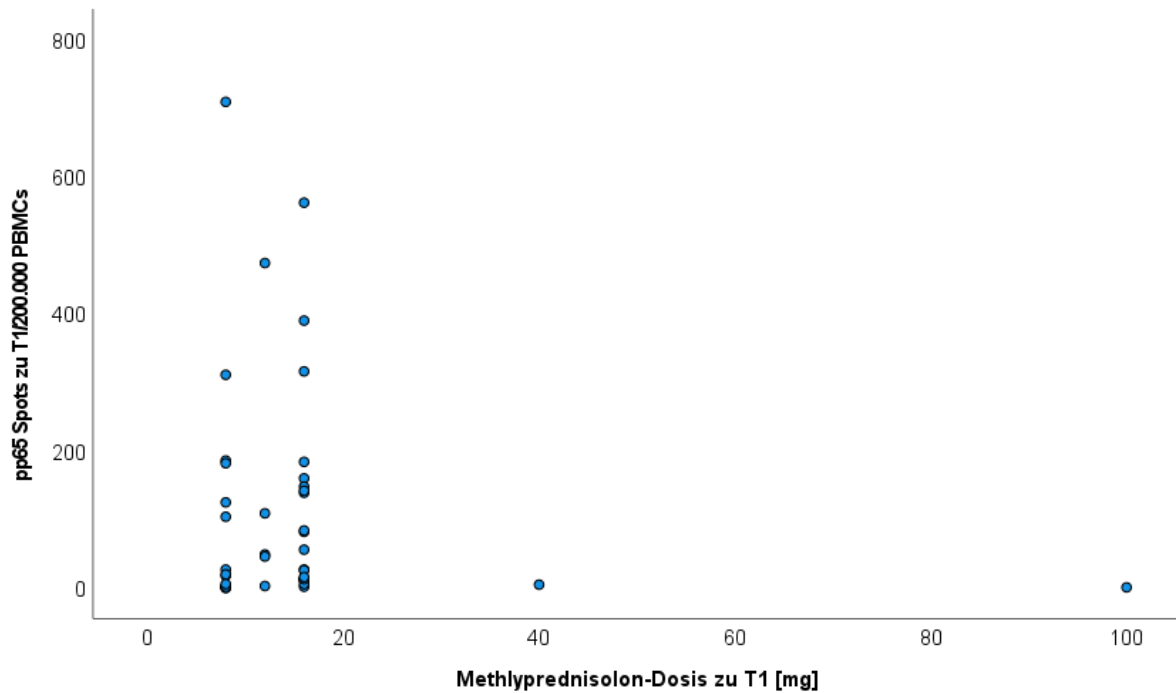


Abbildung 16: Methyprednisolon Dosis im Vergleich mit pp65-Spots. T1: nach 4 Wochen.

3.3.5 ELISpot vor und nach NTX

Vor der NTX hatten 16,9 % (12/71) der Patienten aufgrund ihrer Grunderkrankung bereits eine Immunsuppressionstherapie. Die Immunsuppression begann bei den meisten Patienten (83,1 %) mit der NTX. Beim Vergleich der Patienten mit Immunsuppressionstherapie und derer ohne zu T0 zeigte sich kein Unterschied in den ELISpots.

Weiterhin wurden die ELISpots von T0 und T1 miteinander verglichen, um einen Unterschied mit Beginn der Immunsuppression untersuchen zu können.

Der Median der Spots-Anzahl war zu T0 bei IE-1 und pp65 höher als der Median bei T1 (siehe Abbildung 17 und 18). Mit dem Wilcoxon-Test ergab sich bei IE-1 eine Signifikanz von $p=0,61$ und bei pp65 $p=0,31$. Somit zeigte der Wechsel von keine Immunsuppression auf eine Immunsuppressionstherapie ab NTX keine signifikant niedrigere Spotanzahl zu T1.

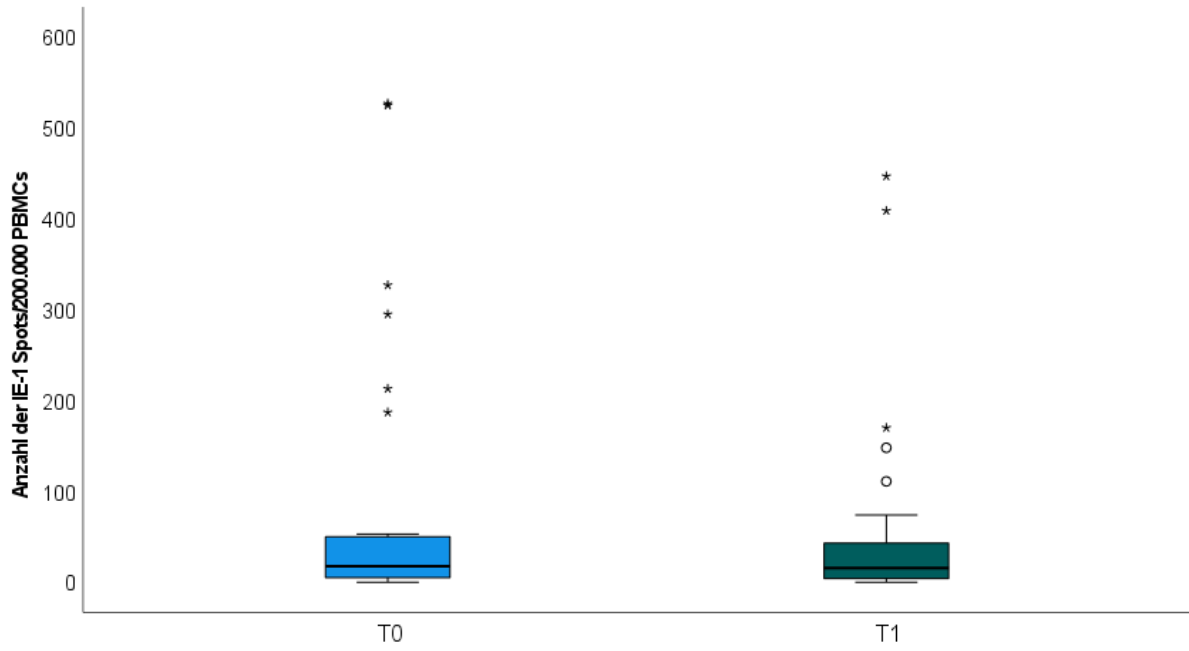


Abbildung 17: IE-1 vor NTX und nach 4 Wochen im Vergleich. $n=34$. T0: vor NTX; T1: nach 4 Wochen.

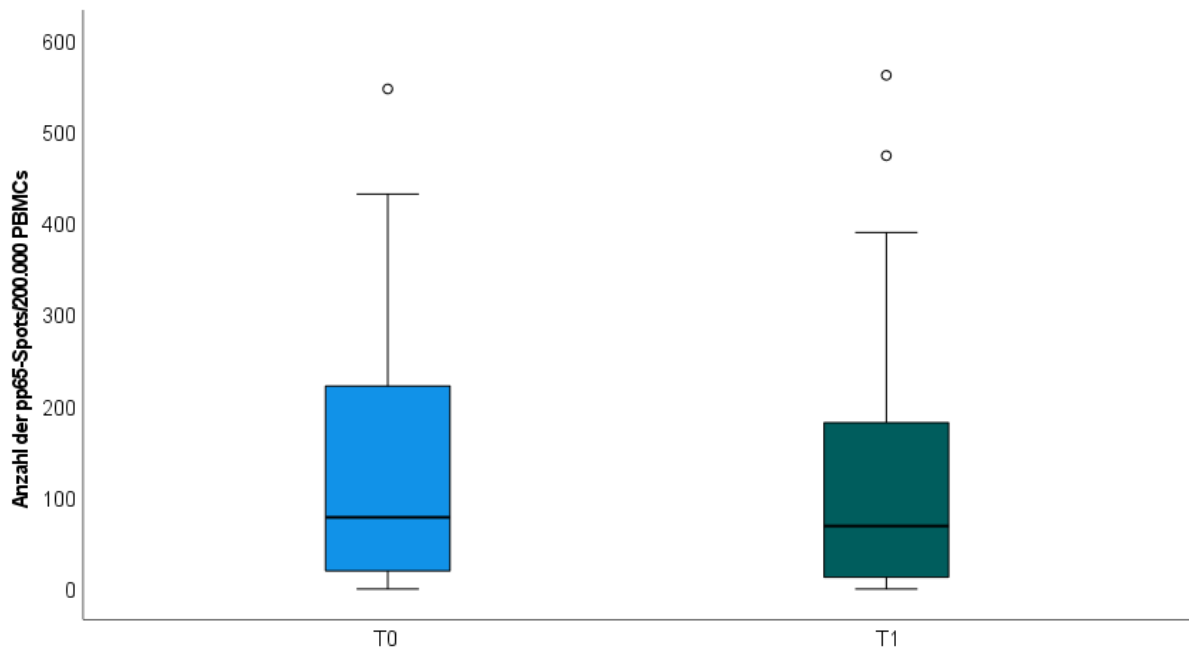


Abbildung 18: pp65 vor NTX und nach 4 Wochen im Vergleich. $n=34$. T0: vor NTX. T1: nach 4 Wochen.

3.4 Infektionen

3.4.1 Häufigkeit von Infektionen

Da die Immunsuppression eine erhöhte Infektanfälligkeit mit sich bringen kann, wurden die Daten zu stattgehabten Infektionen im Beobachtungszeitraum der Patienten nach NTX erfasst. Es wurden in bestimmten Intervallen die stattgehabten Infekte dokumentiert. Das erste Intervall nach NTX bezog sich auf Infekte nach NTX bis zum Follow-Up nach vier Wochen (T1). Die nächsten Intervalle waren Infekte zwischen T1 und T2, T2 und T3 sowie T3 und T4. Nach zwölf Monaten (T4) wurden die aktuellen Infektionen zu diesem Zeitpunkt dokumentiert.

Insgesamt hatten 84,5 % der Patienten (60/71) mindestens einen Infekt innerhalb der ersten zwölf Monate nach NTX. Wie in Tabelle 9 ersichtlich, traten die meisten Infekte zwischen vier Wochen und sechs Monaten auf. Die wenigsten Infekte gab es direkt nach der NTX.

	Nach NTX – T1	T1-T2	T2-T3	T3-T4	T4
Infekt, n (%)	18 (25,4)	37 (52,1)	37 (52,1)	37 (52,1)	19 (26,8)
Kein Infekt, n (%)	53 (74,6)	34 (47,9)	34 (47,9)	34 (47,9)	47 (66,2)

Tabelle 9: Anzahl der Infektionen. T1: nach 4 Wochen; T2: nach 3 Monaten; T3: nach 6 Monaten; T4: nach 12 Monaten.

3.4.2 Art der Infektionen

Wie in Tabelle 10 gezeigt, kam es im Verlauf zu vielen unterschiedlichen Infektionen. Am häufigsten traten neben CMV und BKV Harnwegsinfektionen (HWI) auf. Insgesamt überwogen virale Infekte, am häufigsten kam es zwischen T1 und T2 zu BKV. HWIs nahmen in der Anzahl ab T3 ab, am häufigsten gab es mit 18,2 % zwischen T1 und T2 HWIs. Andere bakterielle Infektionen wie Gastritis, Cholangitis, Appendizitis, Clostridioides difficile Colitis und Pneumonien traten nur vereinzelt auf.

Infektionen, n (%)	Nach NTX – T1	T1 – T2	T2 – T3	T3 – T4	T4
Bakterielle Infektionen					
HWI	7 (15,9)	8 (18,2)	7 (15,9)	3 (6,8)	-
Gastritis	1 (4,5)	-	-	-	-
Appendizitis	-	1 (2,3)	-	-	-
Cholangitis	-	1 (2,3)	-	-	-
Clostridium difficile Colitis	-	-	1 (2,3)	1 (2,3)	-
Pneumonie	-	-	-	2 (4,5)	1 (2,3)
Virale Infektionen					
CMV	6 (13,8)	9 (20,7)	15 (34,5)	2 (4,6)	-
BKV	16 (36,8)	17 (39,1)	15 (34,5)	14 (32,2)	-
RSV	1 (2,3)	-	-	-	-
EBV	1 (2,3)	1 (2,3)	1 (2,3)	1 (2,3)	-
Infekt unklarer Genese	2 (4,5)	1 (2,3)	4 (9,2)	1 (2,3)	-

Tabelle 10: Spektrum der Infektionen. HWI: Harnwegsinfekt. RSV: Humanes Respiratorisches Synzytial-Virus. EBV: Epstein-Barr-Virus. T1: nach 4 Wochen; T2: nach 3 Monaten; T3: nach 6 Monaten; T4: nach 12 Monaten.

3.4.3 Monitoring von Infektionen mittels ELISpot

Um den T-Track® CMV ELISpot als Tool für einen Hinweis für den Status der Immunsuppression und somit bei hoher Immunsuppression einer erhöhten Infektanfälligkeit nutzen zu können, wurden die ELISpots der Patienten mit Infekt und ohne Infekt zu den verschiedenen Zeitpunkten verglichen. Es wurden die zu T1 durchgeführten ELISpots von den Patienten, die im Zeitraum von T1 bis T2 nach NTX einen Infekt hatten, mit den Patienten ohne Infekt in dem Zeitraum verglichen. Des Weiteren wurden diese Vergleiche prospektiv zu den anderen beschriebenen Zeitintervallen (siehe Abschnitt 3.4.1) durchgeführt.

In den Vergleichen der Patienten mit und ohne Infektionen zeigten sich zu keinem der vier Zeitintervalle signifikante Unterschiede in den Spots (siehe Abbildungen 19-22).

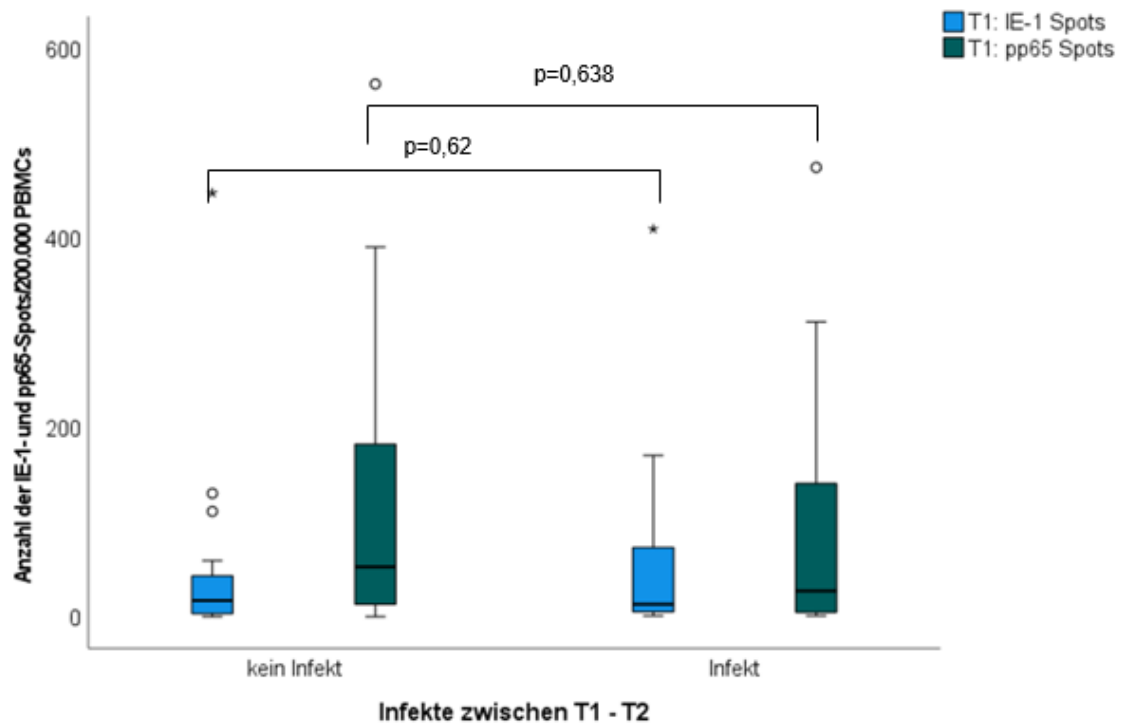


Abbildung 19: ELISpots von Patienten mit und ohne Infektionen zwischen T1 und T2. Kein Infekt n=18. Infekt n=24. T1: nach 4 Wochen; T2: nach 3 Monaten.

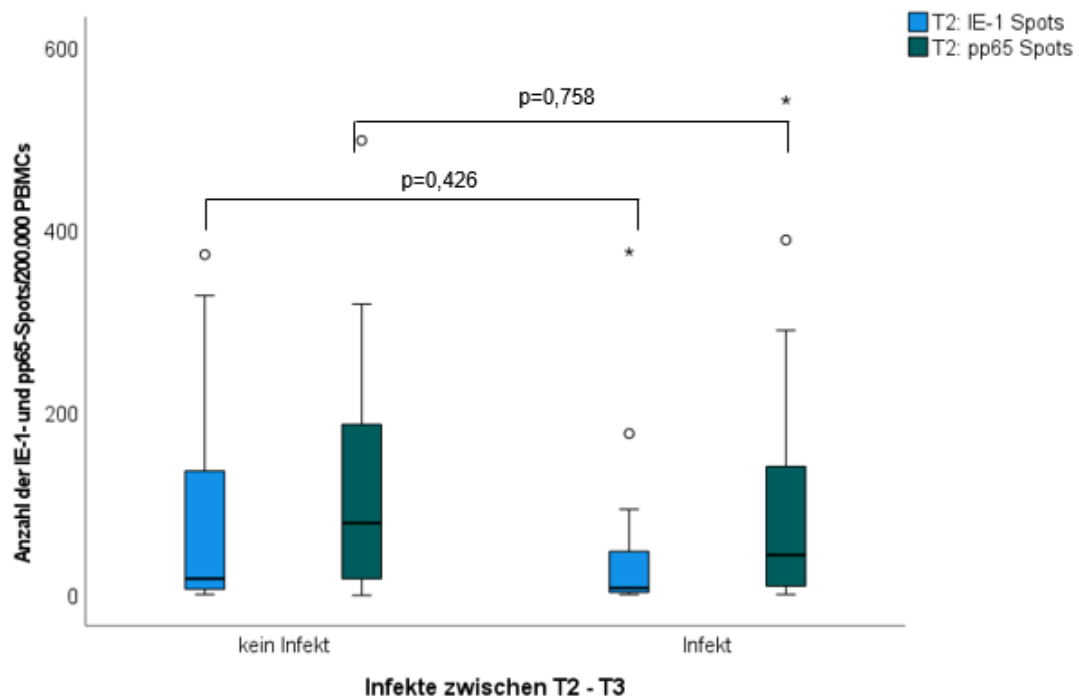


Abbildung 20: ELISpots von Patienten mit und ohne Infektionen zwischen T2 und T3. Kein Infekt n=19. Infekt n=25. T2: nach 3 Monaten; T3: nach 6 Monaten.

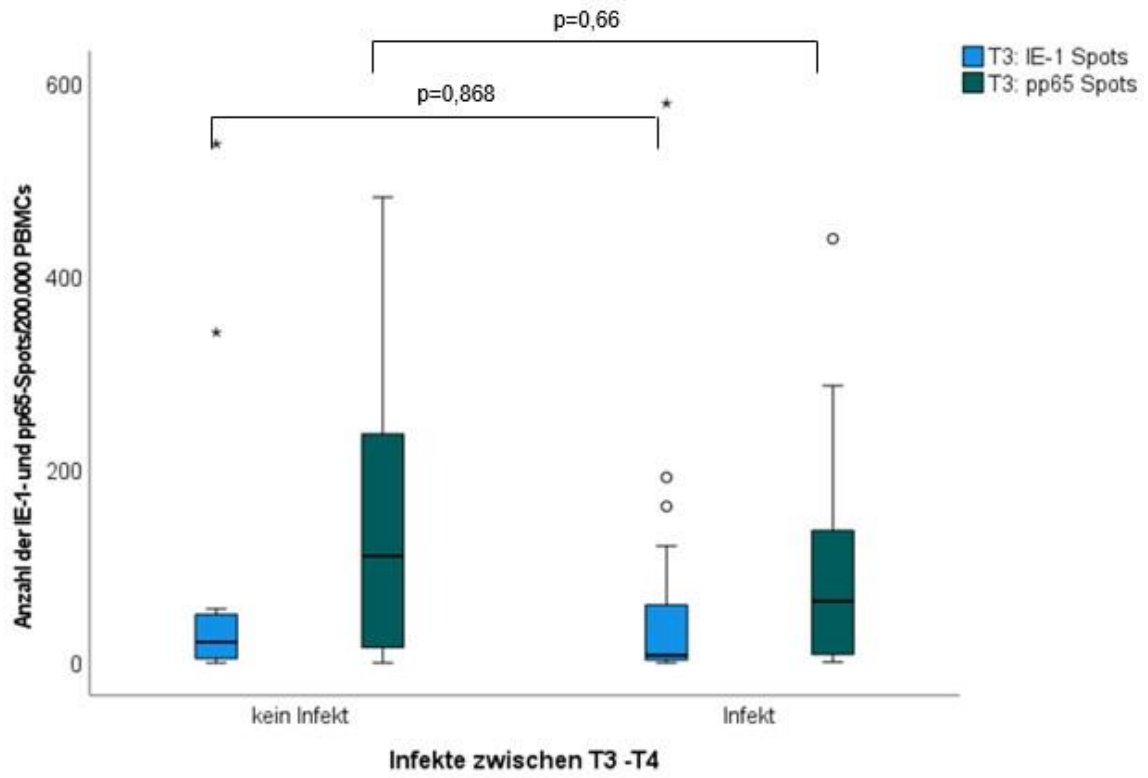


Abbildung 21: ELISpots von Patienten mit und ohne Infektionen zwischen T3 und T4. Kein Infekt n=16. Infekt n=21. T3: nach 6 Monaten; T4: nach 12 Monaten.

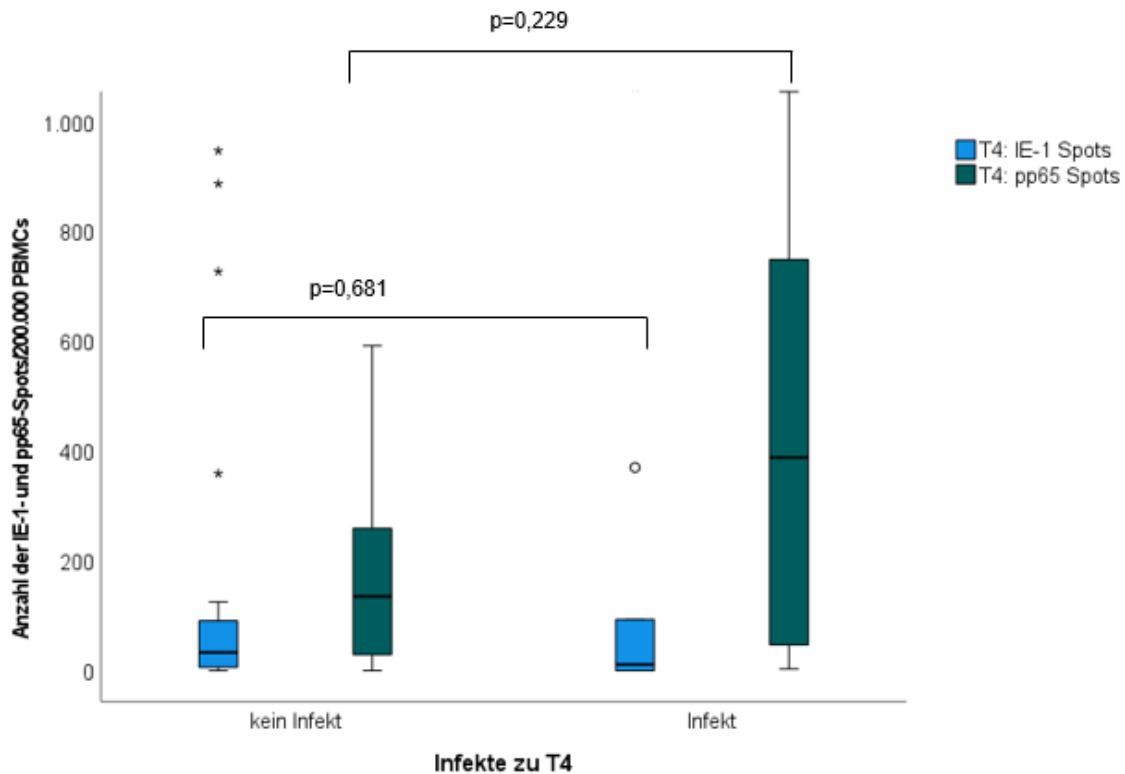


Abbildung 22: ELISpots von Patienten mit und ohne Infektionen zu T4. Kein Infekt n=23. Infekt n=9. T4: nach 12 Monaten.

3.4.4 Monitoring von CMV-Reaktivierungen mittels ELISpot

Da CMV-Reaktivierungen eine häufige Problematik nach Transplantationen darstellen, wurden die ELISpots der Patienten mit CMV-Reaktivierung und derer ohne eine CMV-Reaktivierung auf Unterschiede untersucht.

Um eine prospektive Aussage treffen zu können, verglichen wir hierbei immer die ELISpots jeweils von T0-T4 mit den CMV-Reaktivierungen, zu denen es nach den ELISpots kam.

Der Boxplot in Abbildung 23 zeigt, dass die Patienten, die innerhalb der ersten zwölf Monate nach NTX eine CMV-Reaktivierung hatten, im Vergleich zu den Patienten, die keine CMV-Reaktivierung entwickelten, signifikant niedrigere pp65-Spots in den ELISpots vor NTX ($p < 0,01$) hatten.

Zu allen Zeitpunkten fiel auf, dass die Patienten mit einer CMV-Reaktivierung im ELISpot vor der Reaktivierung weniger Spots aufwiesen als die Patienten ohne eine CMV-Reaktivierung. Zu T1 zeigte sich, wie in Abbildung 24 dargestellt, eine signifikant niedrigere Anzahl an pp65-Spots ($p = 0,026$). Auch ist festzustellen, dass sich die Spots-Anzahl von IE-1 beim Vergleich der Gruppen mit und ohne CMV-Reaktivierung nicht signifikant unterschied (siehe Abbildungen 23-26).

5/9 der Non-Responder (55,6 %) hatten eine CMV-Reaktivierung. Zudem hatten 2/7 der Weak-Responder (14,3 %) eine CMV-Reaktivierung. Bei den Strong-Respondern waren 6/28 der Patienten (21,4 %) von einer CMV-Reaktivierung betroffen.

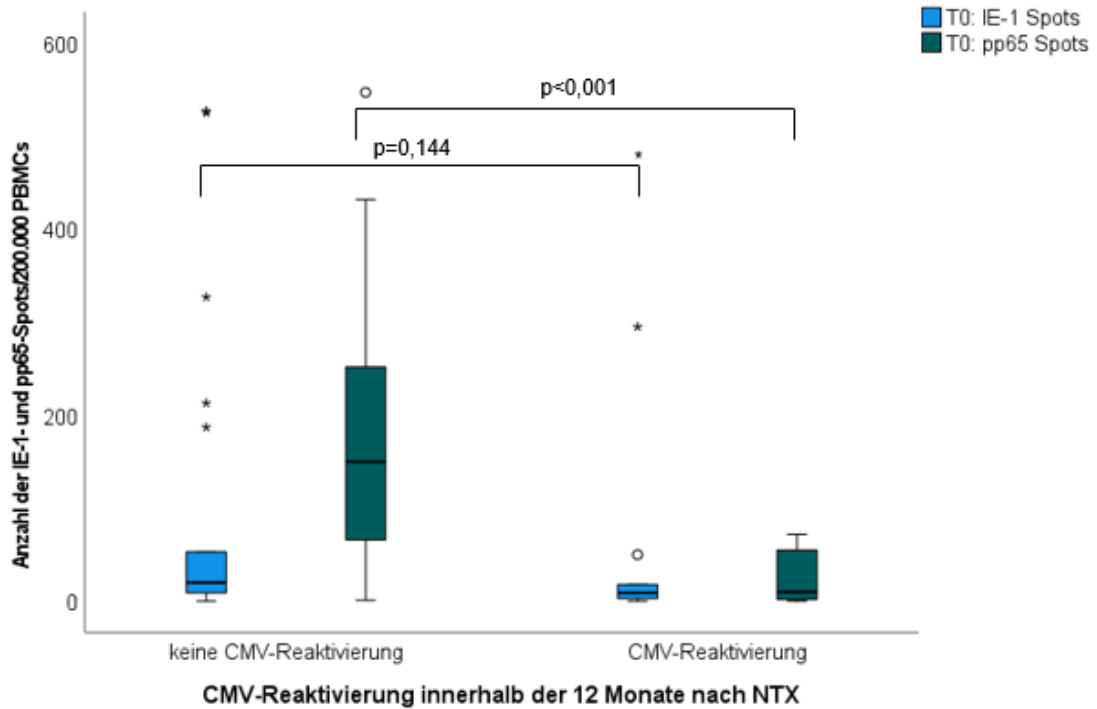


Abbildung 23: Vergleich von Patienten mit und ohne CMV-Reaktivierung innerhalb der ersten 12 Monate nach NTX. Keine CMV-Reaktivierung n=25. CMV-Reaktivierung n=10. T0: vor NTX.

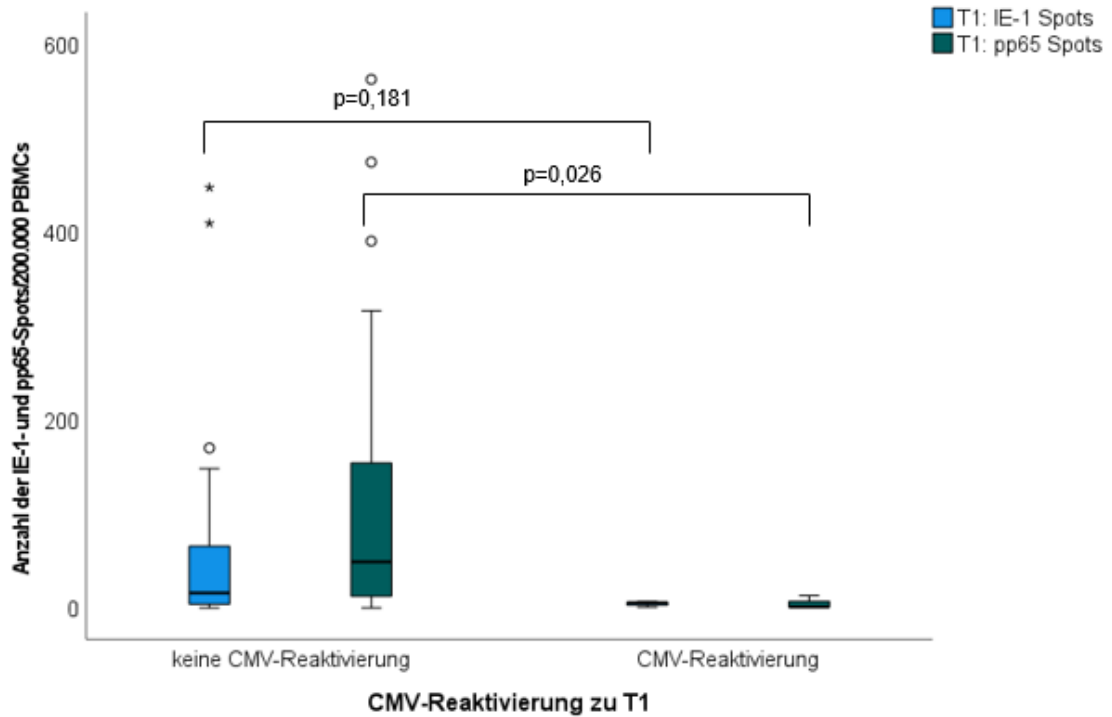


Abbildung 24: Vergleich von Patienten mit und ohne CMV-Reaktivierung nach 4 Wochen. Keine CMV-Reaktivierung n=39. CMV-Reaktivierung n=3. T1: nach 4 Wochen.

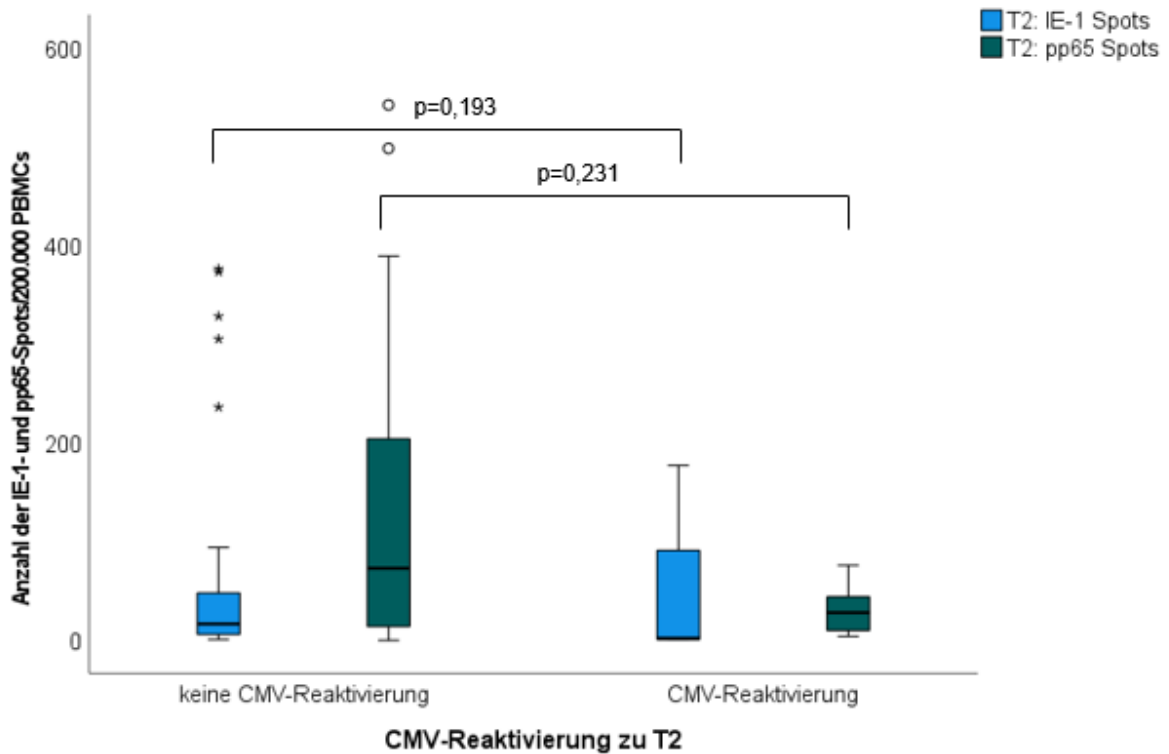


Abbildung 25: Vergleich von Patienten mit und ohne CMV-Reaktivierung nach 3 Monaten. Keine CMV-Reaktivierung n=38. CMV-Reaktivierung n=6. T2: nach 3 Monaten.

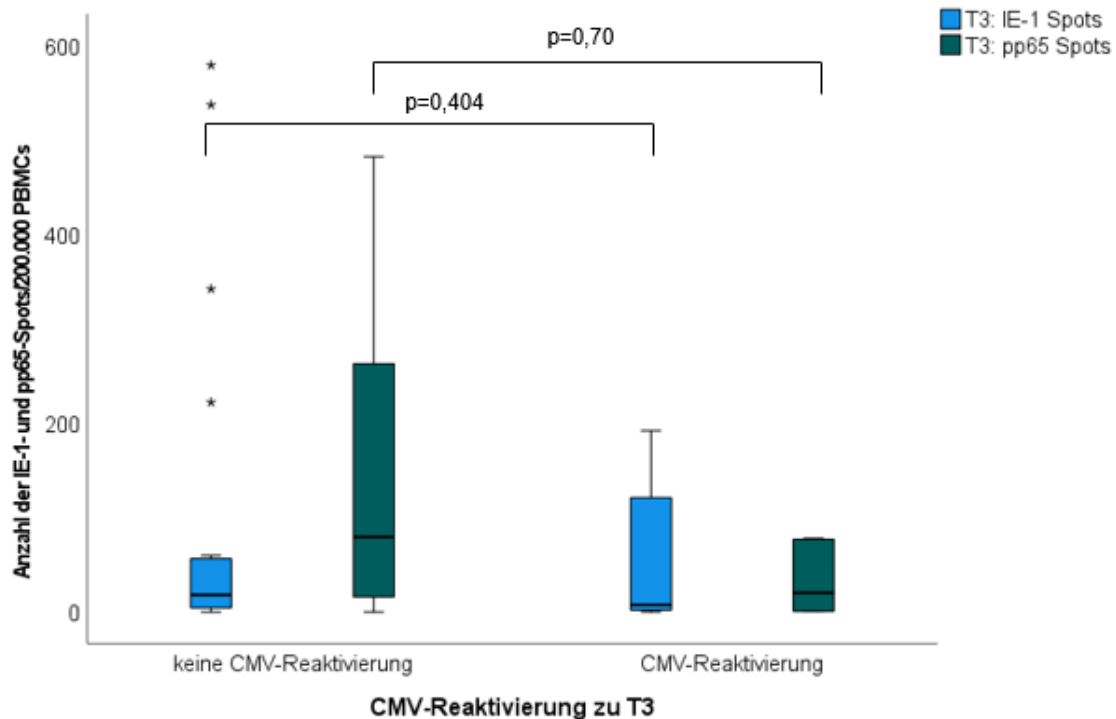


Abbildung 26: Vergleich von Patienten mit und ohne CMV-Reaktivierung nach 6 Monaten. Keine CMV-Reaktivierung n=28. CMV-Reaktivierung n=10. T3: nach 6 Monaten.

3.4.5 Monitoring von BKV-Reaktivierungen mittels ELISpot

Neben CMV spielte auch BKV eine große Rolle bei den viralen Infektionen nach NTX. Daher wurden auch die BKV-Events dokumentiert. Zu den BKV-Events wurden BK-Virämien, die durch mehrfach positive BKV-PCR bestätigt wurden, gezählt. Eine BKVN wurde nur als solche gewertet, wenn sie in einer Nierenbiopsie gesichert wurde. Zu den selbstlimitierenden Events zählten einmalig schwach positive BKV-PCRs.

Im zwölfmonatigen Beobachtungszeitraum nach NTX hatten 28,2 % der Patienten (20/71) ein BKV-Event. Davon hatten 75 % der Patienten (15/20) über einen Zeitraum von mindestens drei Monaten eine wöchentlich untersuchte positive BKV-PCR.

Wie aus Tabelle 11 ersichtlich, kam es schon nach vier Wochen zu BKV-Reaktivierungen und die BKV-Events flachten im Verlauf auch nicht ab. Bereits zu T2 hatte ein Patient eine biopsisch gesicherte BKVN und im Verlauf hatten noch zwei weitere Patienten BKV-Nephropathien.

Um zu untersuchen, ob der T-Track® CMV ELISpot auch als Testverfahren genutzt werden kann, um ein erhöhtes Risiko für eine bevorstehende BKV-Reaktivierung feststellen zu können, wurden die ELISpots von Patienten ohne BKV-Event mit Patienten, die ein BKV-Event hatten, verglichen.

Festzustellen ist, dass die Patienten mit einem BKV-Event zu allen Zeitpunkten weniger IE-1- und pp65-Spots hatten als die Patienten ohne ein BKV-Event (siehe Abbildungen 27-29). Zu T2 und T3 waren die IE-1-Spots signifikant niedriger (3 Monate $p=0,017$; 6 Monate $p=0,007$).

	T0-T1	T1-T2	T2-T3	T3-T4
BK-Virämie, n (%)	14 (19,7)	16 (22,5)	13 (18,3)	12 (16,9)
BKV-Nephropathie, n (%)	-	1 (1,4)	2 (2,8)	2 (2,8)
Selbstlimitierendes Event, n (%)	2 (2,8)	-	-	-

Tabelle 11: BKV-Events. Als BKVN werden nur gesicherte Befunde in einer Nierenbiopsie gewertet. T0: vor NTX, T1: nach 4 Wochen, T2: nach 3 Monaten, T3: nach 6 Monaten, T4: nach 12 Monaten.

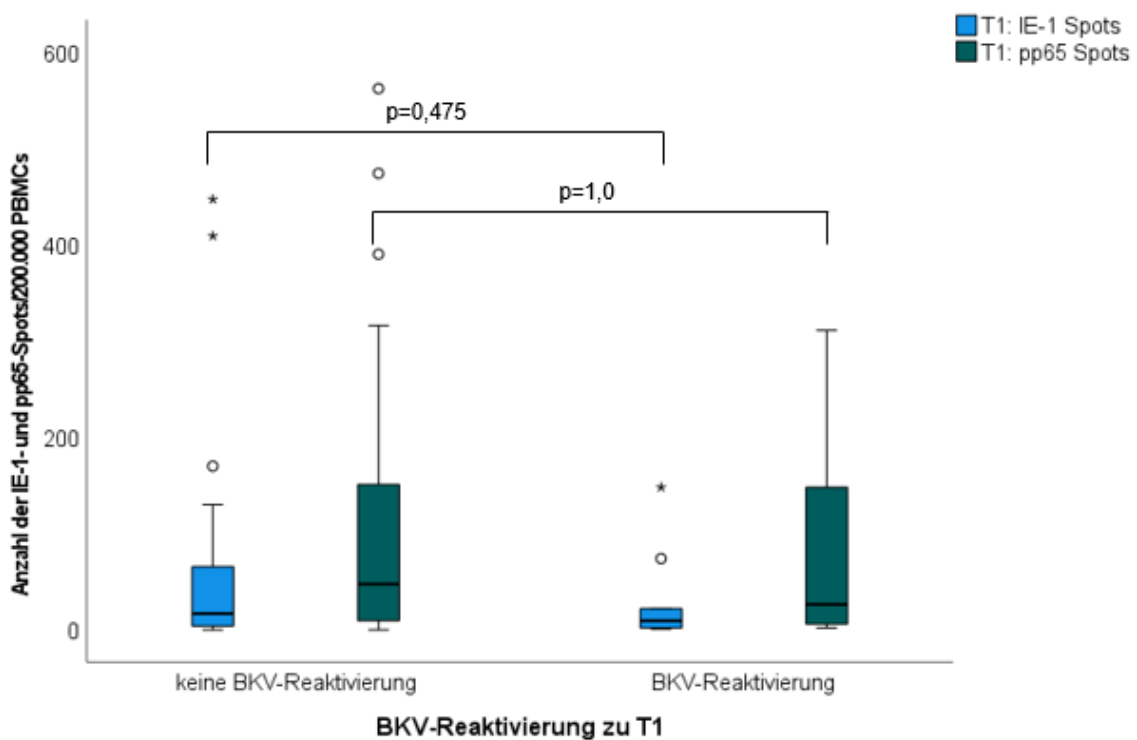


Abbildung 27: Vergleich von Patienten mit und ohne BKV-Reaktivierung nach 4 Wochen. Keine BKV-Reaktivierung $n=32$. BKV-Reaktivierung $n=10$. T1: nach 4 Wochen.

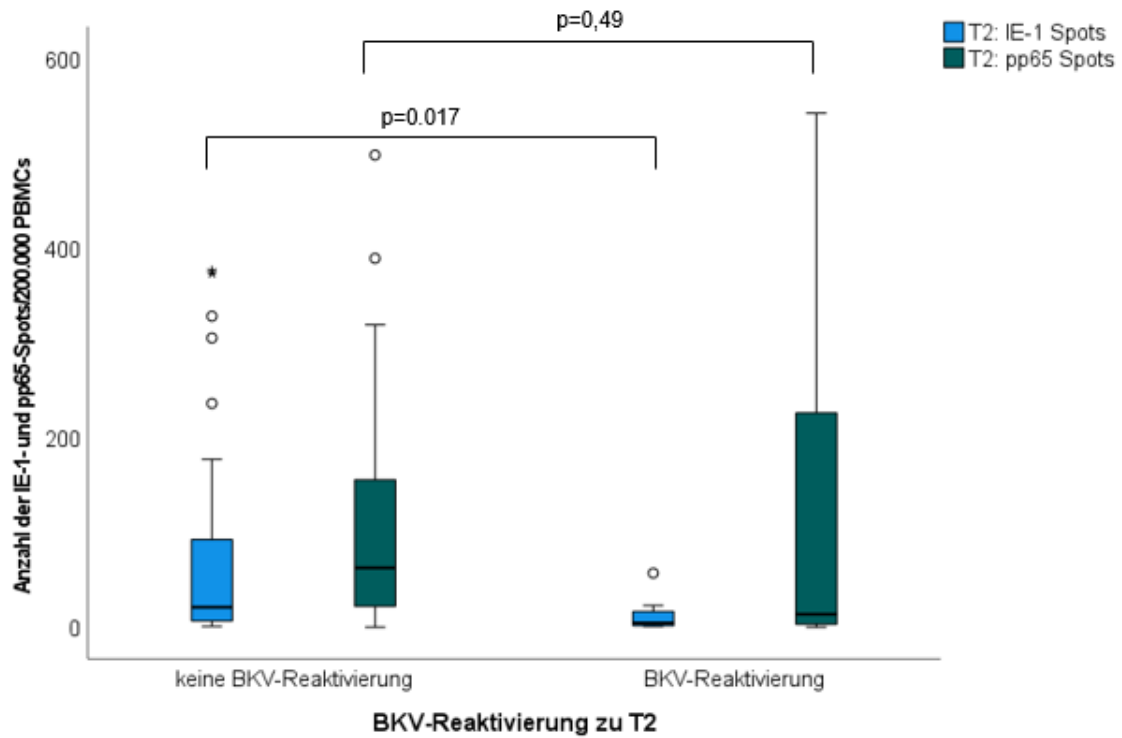


Abbildung 28: Vergleich von Patienten mit und ohne BKV-Reaktivierung nach 3 Monaten. Keine BKV-Reaktivierung n=32. BKV-Reaktivierung n=12. T2: nach 3 Monaten.

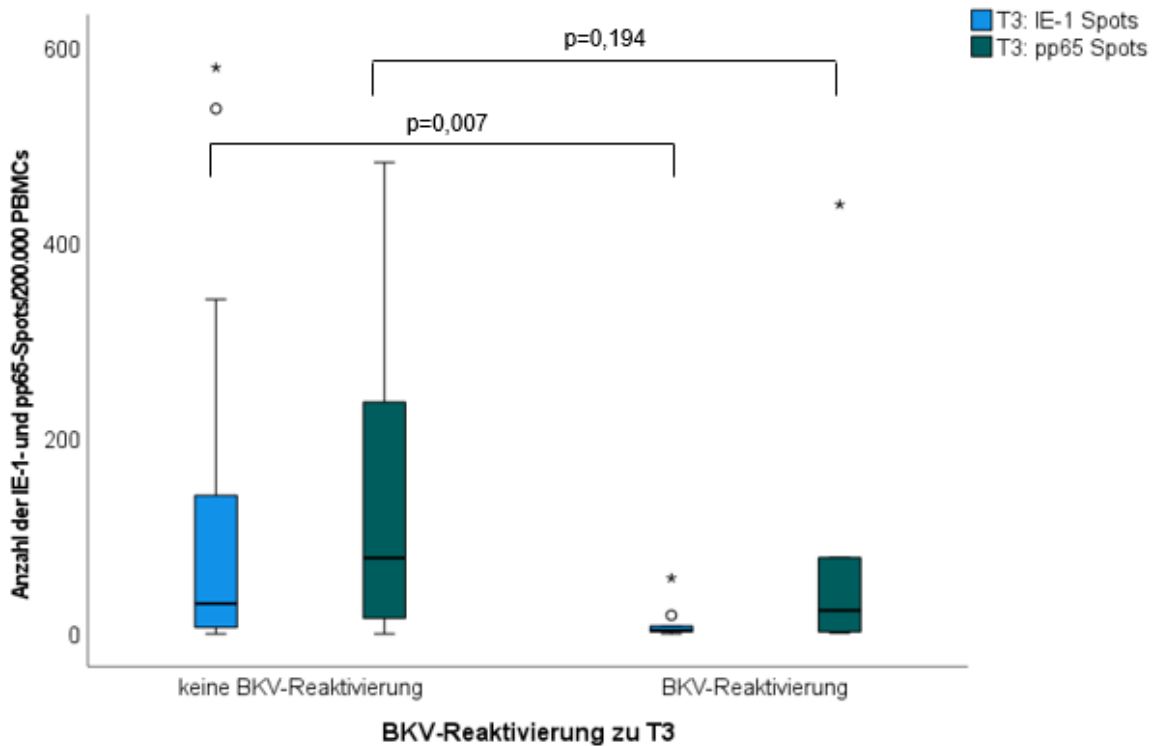


Abbildung 29: Vergleich von Patienten mit und ohne BKV-Reaktivierung nach 6 Monaten. Keine BKV-Reaktivierung n=28. BKV-Reaktivierung n=10. T3: nach 6 Monaten.

3.5 Transplantatabstoßungen

Da die Immunsuppression das Ziel hat, eine Transplantatabstoßung vorzubeugen, spielt die Erfassung von Abstoßungen im Zusammenhang mit dem Grad der Immunsuppression eine große Rolle.

Im gesamten Verlauf hatten 13 Patienten eine Transplantatabstoßung, davon kam es bei sieben Patienten zu einer einmaligen Abstoßung und sechs Patienten hatten zwei Abstoßungen. Ein Patient hatte zu T4 ein Transplantatversagen.

Der häufigste Zeitpunkt für eine Abstoßung war in den ersten vier Wochen nach der NTX. Hier kam es bei neun Patienten zu einer Rejektion (siehe Tabelle 12). Zwischen T1 und T2 sowie zwischen T2 und T3 hatten jeweils vier Patienten eine Abstoßung. Zwischen T3 und T4 kam es zu keiner Transplantatabstoßung.

Um zu explorieren, ob der T-Track® CMV ELISpot einen Hinweis darauf geben kann, dass eine zu niedrige Immunsuppression und somit ein erhöhtes Risiko für eine Abstoßung vorliegt, wurden die ELISpots der Patienten mit und ohne Abstoßung verglichen.

Hierbei zeigte sich (siehe Abbildungen 30 und 31), dass die IE-1- und pp65-Spots der Patienten mit Abstoßungen niedriger waren als die der Patienten ohne Abstoßung, jedoch nicht signifikant.

	Nach NTX T1	T1-T2	T2-T3	T3-T4	T4
Transplantatabstoßung, n (%)	9 (12,7)	4 (5,6)	4 (5,6)	-	-
Transplantatversagen, n (%)	-	-	-	-	1 (1,4)

Tabelle 12: Transplantatabstoßungen. Als Abstoßungen wurden nur biopsiegesicherte Rejektionen gewertet. T0: vor NTX, T1: nach 4 Wochen, T2: nach 3 Monaten, T3: nach 6 Monaten, T4: nach 12 Monaten.

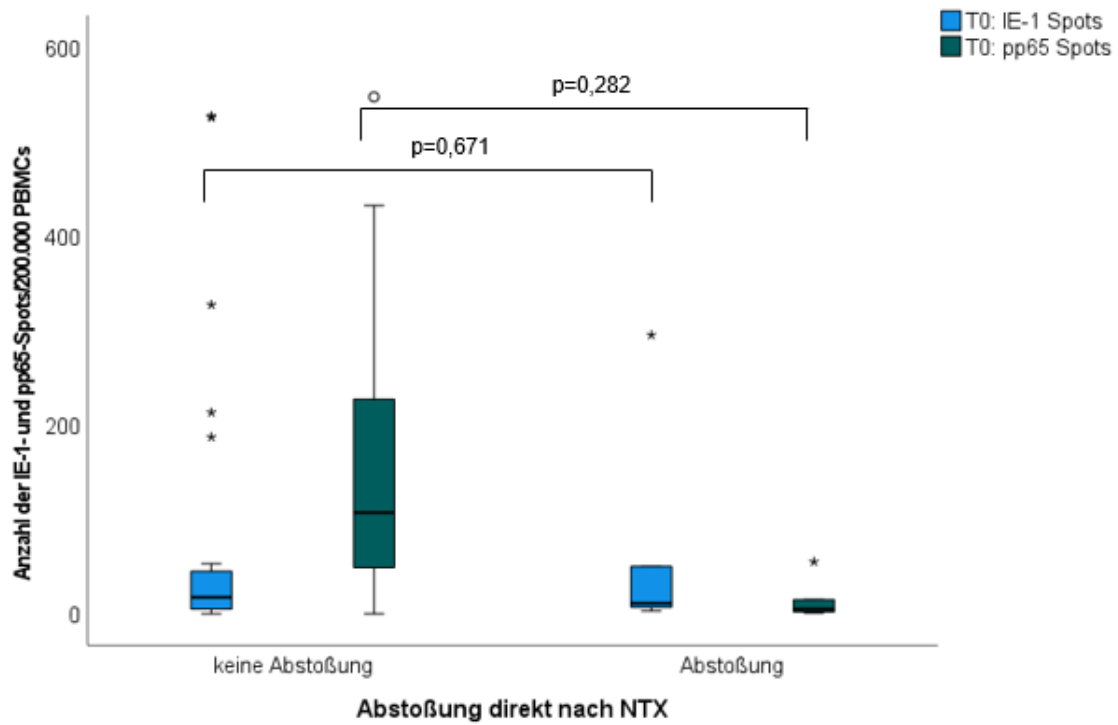


Abbildung 30: Vergleich von Patienten mit und ohne Transplantatabstoßung innerhalb der ersten 4 Wochen nach NTX. Keine Abstoßung n=30. Abstoßung n=5. T0: vor NTX.

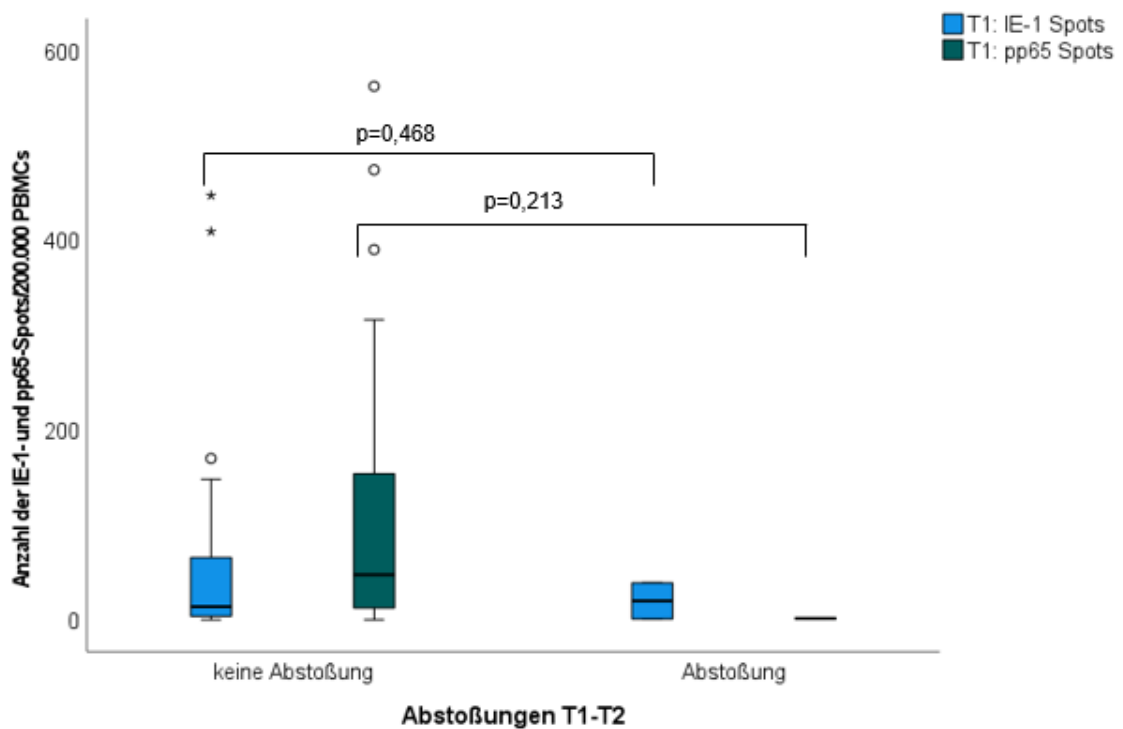


Abbildung 31: Vergleich von Patienten mit und ohne Transplantatabstoßung zwischen 4 Wochen und 3 Monaten nach NTX. Keine Abstoßung n=40. Abstoßung n=2. T1: nach 4 Wochen, T2: nach 3 Monaten.

4 Diskussion

4.1 Studiendesign und zentrale Ergebnisse

In der vorgestellten Studie wurde untersucht, ob der T-Track® CMV ELISpot bei Nierentransplantierten mit einem CMV-positiven Status die T-Zell-Reaktivität auf die CMV-spezifischen Antigene IE-1 und pp65 messen kann. Außerdem wurde beleuchtet, ob sich das Assay eignet, um ein erhöhtes Risiko für bevorstehende CMV-Reaktivierungen zu detektieren. Insgesamt verglichen wir die Ergebnisse der durchgeführten ELISpots mit darauffolgenden Infektionen und Abstoßungen, um festzustellen, ob der Test sich dafür eignet, den Grad der Immunsuppression festzustellen.

Das prospektive Studiendesign ermöglichte einen Blick auf die Infektionen und Abstoßungen, die nach den bereits durchgeführten ELISpots aus den Blutproben der Patienten auftraten und der T-Track® CMV ELISpot konnte so als möglicher Test vor NTX betrachtet werden, um ein erhöhtes Risiko für bevorstehende CMV-Reaktivierungen detektieren zu können. Der vor der NTX durchgeführte ELISpot ließ einen Vergleich der Ergebnisse überwiegend ohne Beeinflussung durch bereits erfolgte Immunsuppression zu. In anderen Studien wurden oftmals nur Tests unter bereits begonnener Immunsuppression durchgeführt (81, 82) und es wurde sich auf die Zeit nach der Tx konzentriert.

4.2 Patientencharakteristika

Mit einer Anzahl von 71 Patienten fällt die Größe der Kohorte im Vergleich zu anderen Studien, die ähnliche Untersuchungen durchführten, recht niedrig aus. Die Geschlechterverteilung in der Studienpopulation verhält sich ähnlich wie bei den Nierentransplantierten in Deutschland generell (83). Auch die Altersverteilung ist mit 22,5 % an Patienten in der Studie, die älter als 65 Jahre sind, zu 25 % im gleichen Alter in Deutschland 2019, vergleichbar. Etwa 24 % der Nierentransplantationen waren Lebendspenden, wohingegen es in der Studie 19,7 % waren.

Mit 62 % an CMV-seropositiven Patienten konnten weniger Patienten eingeschlossen werden als erwartet, da von einer Inzidenz der CMV-Seropositivität von 66 % ausgegangen wurde (84). Mit mehr CMV-seropositiven Patienten wäre ein größerer Vergleich der ELISpots möglich gewesen. Eine mögliche Erklärung für die geringere Anzahl an CMV-seropositiven Patienten könnte das Durchschnittsalter sein, da bekannt ist, dass die CMV-Seroprävalenz mit dem Alter zunimmt. Zudem beruht die Datenlage der CMV-Prävalenz in vielen Studien auch auf Schätzungen oder alten Studien, bei denen keine Angaben zu alters- oder geschlechtsspezifischer Prävalenz gemacht wurden. Als weiterer Faktor kommt hinzu, dass

bei Frauen im gebärfähigen Alter eine erhöhte CMV-Seroprävalenz festgestellt wurde (41, 85) und in unserem Patientenkollektiv nur 32,4 % Frauen waren.

Der größte Anteil (91,5 %) war vor NTX dialysepflichtig und wenige der Patienten wurden re-transplantiert (5,6 %). 12,7 % der Patienten hatten eine verzögerte Funktionsaufnahme des Nierentransplantats, wohingegen es laut Literatur bei bis zu 30 % von Patienten mit NTX dazu kommt (86). Insgesamt sind die epidemiologischen Faktoren des Studienkollektivs ähnlich dem der bekannten Daten zu Nierentransplantationen in Deutschland 2021 der DSO (4).

Die initiale Immunsuppression war mit Tacrolimus, MMF, Steroiden und Basiliximab als Induktionstherapie bei fast allen (94,4 %) Patienten gleich, sodass wir vor allem zum Zeitpunkt vor NTX und vier Wochen danach keine Verzerrung durch unterschiedliche Immunsuppressiva bei der Betrachtung der ELISpots hatten. Auch der Verlauf der Steroid-Dosis verhielt sich zu den Zeitpunkten der Blutentnahme konstant. Die Immunsuppression entsprach insgesamt überwiegend den in den KDIGO-Leitlinien empfohlenen Präparaten (25) und richtete sich nach den klinischen Standards (29, 87). Die medikamentenspezifischen, empfohlenen Talspiegel von Tacrolimus deckten sich mit den gemessenen Talspiegeln der Patienten der Studie.

4.3 Monitoring mit CMV-ELISpot

Wie auch in anderen Arbeiten beschrieben, hat sich für uns der T-Track® CMV ELISpot als geeignete Methode herausgestellt, um die CMV-Reaktivität von T-Zellen zu messen (13, 71).

Die unterschiedliche Verteilung von IE-1 und pp65-Spots führte in unseren Daten dazu, dass pp65 sich als geeigneterer Marker identifizierte. Zu allen Zeitpunkten war die Spotanzahl von pp65 signifikant höher als bei IE-1. Im Verlauf blieb bei den einzelnen Patienten die Verteilung der Spots ähnlich, sodass es bei Patienten, die von Anfang an nur IE-1 Spots hatten, auch immer dabei blieb. Dass IE-1 ein frühes Antigen ist, welches zu Beginn der CMV-Replikation exprimiert und pp65 in späten infektiösen Viruspartikeln exprimiert wird (88), wurde mit den Erkenntnissen aus der Studie nicht bestätigt. Bei den Patienten, die eine neue CMV-Erkrankung bekamen, bildeten sich nicht erst IE-1 Spots, sondern die Verteilung war unspezifisch.

Bemerkenswert ist, dass sich IE-1 in anderen Studien als potenzieller Marker für die Vorhersage eines erhöhten Risikos für eine CMV-Infektion herausstellte (55, 89). Generell gibt es in vielen Studien widersprüchliche Aussagen zu der Rolle von pp65 und IE-1 (90). Auch zeigen manche Studien keinen signifikanten Zusammenhang zwischen den T-Zell-Reaktionen vor der Transplantation und der Zeit bis zur CMV-Replikation (91). So lässt sich nicht abschließend und eindeutig klären, ob IE-1 oder pp65 ein besserer Marker ist und welche Faktoren dafürsprechen, dass eher Spots bei IE-1 oder pp65 auftreten.

Dass sich die Anzahl der Spots generell im Verlauf steigert und zum zwölfmonatigen Zeitpunkt am höchsten ist, könnte in Zusammenhang mit der geringeren Immunsuppression und dem verbesserten Allgemeinzustand der Patienten im Vergleich zu vor der NTX stehen.

4.3.1 Einschätzung der Immunsuppression mit CMV-ELISpot

Die nicht mit den Spots korrelierenden Tacrolimus-Spiegel zeigten, dass der Test sich nicht dazu eignet, den Status der immunsuppressiven Medikamente zu erfassen. Im klinischen Alltag gilt die aktuelle etablierte Strategie regelmäßig die Talspiegel zu messen und als Ausgangspunkt für die Anpassung der Immunsuppression zu verwenden.

Bei vielen Medikamenten basiert die Behandlung aber auf einer gewichtsadaptierten Dosierung oder der klinischen Wirkung, wie das Ende einer Abstoßungsreaktion, ohne messbare Spiegel. Dazu gehören auch Steroide, die hier im Vergleich auch nicht mit den pp65 oder IE-1 Spots korrelierten. Durch den T-Track® CMV ELISpot kann somit nicht die Überwachung der Immunsuppressionstherapie übernommen werden. In einer anderen Studie konnte im ELISpot ein Unterschied zwischen den Dosierungen der Steroide und der Spotanzahl festgestellt werden (12), was hier nicht bestätigt werden konnte. Generell könnte dies auch daran liegen, dass die ELISpots zu unterschiedlichen Zeitpunkten durchgeführt wurden und nicht unmittelbar vor der Blutentnahme eine Steroid-Gabe erfolgte. Um jedoch einen Test zu etablieren, der den Grad der Immunsuppression erfasst und bei der Einstellung der Immunsuppressionsmedikation helfen kann, sollte dieser zu normalen Routinekontrollen nach NTX durchgeführt werden können, wie es in der hier gezeigten Studie durchgeführt wurde.

4.4 CMV-Erkrankungen und Monitoring

Mit 62 % waren die meisten Patienten in der intermediate risk Gruppe und 18,3 % in der high risk Gruppe. Da nur die CMV-seropositiven Patienten (n=44) auch messbare Spots in den ELISpots hatten, konnte nur dieser Anteil an Patienten hinsichtlich Veränderungen der ELISpots im Verlauf betrachtet werden.

Alle Patienten, die entweder selbst CMV-seropositiv waren oder deren Organspender CMV-seropositiv war, erhielten Valganciclovir als Prophylaxe. In mehreren Studien konnte festgestellt werden, dass die beiden präventiven Strategien, entweder regelmäßige CMV-PCR-Kontrollen durchzuführen oder eine generelle antivirale Prophylaxe während eines bestimmten Zeitraums einzunehmen, gleichermaßen wirksam sind (92).

Es wurden einige CMV-Events dokumentiert. Auffällig war dabei, dass es bei drei Patienten sogar unter CMV-Prophylaxe zu einer CMV-Reaktivierung kam. Zwei weitere Patienten hatten trotz Prophylaxe eine selbstlimitierende Infektion. Entstandene CMV-Erkrankungen trotz Prophylaxe konnten auch in einer anderen Studie festgestellt werden (93). Bekannte Ursachen dafür sind unter anderem Fehldosierungen von Valganciclovir bei Niereninsuffizienz (94, 95), da bei verringerter GFR eine Dosisanpassung erforderlich ist. Weitere Untersuchungen wären aufschlussreich, um festzustellen, ob eine Überwachung der Medikamentenspiegel bei der Dosisanpassung von Valganciclovir hilfreich wäre, um CMV-Reaktivierungen, die eigentlich durch Valganciclovir vermieden werden sollten, besser unter Kontrolle zu halten. Außerdem werden viele Patienten unter prophylaktischer Therapie weniger auf CMV getestet, was zu hinterfragen wäre, wenn man bedenkt, dass es auch unter Prophylaxe zu CMV-Reaktivierungen kommt. Wenn, wie bereits untersucht, regelmäßige CMV-PCR Kontrollen gleichwertig wirksam sind wie eine Prophylaxe mit Valganciclovir und es auch unter der Prophylaxe zu CMV-Reaktivierungen kommen kann, scheint es ein besserer Weg zu sein, Valganciclovir nicht bei allen Patienten zu verwenden, um auch die Nebenwirkungen zu verhindern. Andere alternative Methoden, wie eine Impfung zur Prävention von CMV-Infektionen, konnten bisher keine Wirksamkeit zeigen (96).

Die meisten CMV-Infektionen in der Studie verliefen asymptomatisch. Jedoch können auch asymptomatische Verläufe zu gesundheitlichen Auswirkungen führen. Neben direkten Schäden durch CMV sind bereits auch indirekte CMV-Effekte wie akute und chronische Transplantatabstoßung, Diabetes und Atherosklerose festgestellt worden (97-99). Zudem kann das CMV indirekt das Risiko für bakterielle, mykotische und virale Infektionen erhöhen (100), auch wenn viele Prozesse dahinter noch nicht vollständig verstanden sind. Daher ist auch das Überwachen von asymptomatischen CMV-Erkrankungen für den Verlauf nach Tx wichtig. Eine langfristige Studie mit Blick auf die Auswirkungen auf das Nierentransplantat bei einer CMV-Infektion zu einem frühen Zeitpunkt nach NTX wäre sicherlich sinnvoll, um die Rolle von frühen CMV-Infektionen näher untersuchen zu können.

Die Patienten wurden nicht alle mit Valganciclovir oder Ganciclovir behandelt, obwohl die Viruslast ähnlich war. Trotzdem gab es keine schwerwiegenderen CMV-Verläufe. Es ist vorbeschrieben, dass eine höhere Viruslast auch mit einem schwereren Verlauf korreliert (101, 102). Auf Grundlage der Viruslast wurde in der Studie keine Therapieentscheidung getroffen. Einige der Patienten trugen eine Virämie aus, ohne dass eine Behandlung notwendig war. Dies zeigt, dass die optimalen Schwellenwerte für präventive Strategien noch nicht gut definiert sind und die Frage, inwiefern asymptomatische Patienten behandelt werden sollten, bleibt bestehen. Die Studie zeigt, dass man die präventiven Maßnahmen durch CMV-ELISpots ergänzen und somit die Risikoeinschätzung und die präventive Strategie verbessern könnte. Ähnliches wurde auch in anderen Studien gezeigt (73, 103).

Beim Vergleich der ELISpots vor NTX mit dem Auftreten von CMV-Reaktivierungen innerhalb der zwölf Monate nach NTX zeigte sich, dass die Patienten mit CMV-Reaktivierungen signifikant niedrigere Spots bei pp65 hatten als die Patienten ohne eine CMV-Reaktivierung. Auch die Feststellung, dass Non-Responder dazu geneigt sind, eher eine CMV-Reaktivierung zu entwickeln, scheint hilfreich. So könnte der T-Track[®] CMV dafür genutzt werden, bereits vor NTX das Risiko für eine bevorstehende CMV-Reaktivierung einzuschätzen. Dies wurde auch bereits in anderen Studien festgestellt (104, 105). Einen weiteren Marker, um das Risiko für CMV-Reaktivierungen bestimmen zu können, stellten in manchen Studien die niedrigeren Lymphozytenzahlen vor Tx dar (106-108).

Auch nach vier Wochen und nach drei Monaten hatten die Patienten mit einer CMV-Reaktivierung signifikant weniger Spots bei pp65 als die Patienten, die kein CMV-Event hatten. So eignete sich der Test auch, um unmittelbar vor einer CMV-Reaktivierung das Risiko vorherzusagen.

Nach sechs und nach zwölf Monaten waren die Spots nicht signifikant niedriger. Diese Zeitpunkte scheinen nicht geeignet, um einen Vorhersagewert zu bestimmen. Da die ersten Monate nach NTX entscheidend sind und in dem Zeitraum das höchste Risiko für Infekte und Abstoßungen ist, ist es umso besser, je früher das Risiko eingeschätzt und so gegebenenfalls die Immunsuppression geändert werden kann. Auch wenn die immunmodulatorischen Mechanismen noch nicht endgültig geklärt wurden, zeigte die ATHENA-Studie, dass die Therapie mit Everolimus, kombiniert mit Tacrolimus oder Cyclosporin A, einen signifikanten Vorteil bei der Prävention von CMV-Infektionen im Vergleich zur Standardtherapie mit Tacrolimus und MMF brachte (109). Die Patienten, die mit Everolimus behandelt wurden, behielten die CMV-spezifische T-Zell-Funktionalität bei, was der Grund für den verbesserten Schutz vor CMV-Infektionen sein könnte. Da mTOR-Inhibitoren die T-Zell-Funktion verbessern, könnten einige Patienten von einer Behandlung mit diesen profitieren (110, 111). Mit diesen Erkenntnissen und einer Risikoeinschätzung durch einen ELISpot vor NTX könnte die Immunsuppressionstherapie bei Patienten mit einem hohen Risiko, eine CMV-Infektion nach NTX zu bekommen, mit Everolimus und Tacrolimus eingeleitet werden. Da wir in unserer Studie nur einen sehr geringen Anteil an Patienten mit Everolimus als Teil der Immunsuppressionstherapie hatten (5,6 % nach 4 Wochen), ist ein Vergleich mit anderen Studien nicht aussagekräftig möglich.

55,6 % der Non-Responder hatten eine CMV-Reaktivierung, wohingegen nur 21,4 % der Strong-Responder von einer CMV-Reaktivierung betroffen waren. Damit scheint eine höhere Spotanzahl bei den ELISpots im Vergleich zu einer niedrigen Spotanzahl bei CMV-Reaktivierung protektiv zu wirken. Dies zeigte sich auch in anderen Arbeiten (112, 113).

Insgesamt wurde festgestellt, dass ein ELISpot mit dem T-Track® CMV vor NTX und nach vier Wochen und drei Monaten hilfreich sein könnte, um das Risiko für eine CMV-Reaktivierung einzuschätzen und die Immunsuppressionstherapie dahingehend zu optimieren.

4.5 Andere Infektionen

Es wurde aufgezeigt, dass es bei fast jedem Patienten (84,5 %) zu Infektionen innerhalb der zwölf Monate nach NTX kam. Dies zeigt erneut die große Relevanz des Managements von Infektionen nach NTX. Die häufigsten Infektionen traten zwischen vier Wochen und sechs Monaten nach NTX auf. Eine Erklärung hierfür könnte die Änderung der Dosierung der Immunsuppressionsmedikamente im Verlauf sein, da vor allem zu Beginn eine höhere Dosierung der Immunsuppression das Infektionsrisiko erhöht. Sicherlich kommt es hier zusätzlich auch auf individuelle Faktoren an, wie zum Beispiel auf den Umgang mit dem erhöhten Infektionsrisiko im privaten Umfeld und Alltag der Patienten.

Es zeigte sich, dass es vor allem zum Auftreten von HWIs kam, was auch als häufige Infektion nach NTX in anderen Studien bestätigt wird (114-116). Vor allem im späteren Verlauf nahmen die viralen Infekte zu. Insgesamt zeigte sich ein großes Spektrum an Infektionen, daher war es schwierig sich auf Gemeinsamkeiten bei den verschiedenen Infektionsgruppen zu konzentrieren. Neben CMV spielte auch BKV eine große Rolle (siehe Abschnitt 4.6).

Beim Vergleich der ELISpots der Patienten mit und ohne Infektionen zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Die Spots waren nicht, wie in der Hypothese aufgestellt, vor einer Infektion niedriger, sondern es zeigte sich ein unspezifischer Verlauf. Um diesbezüglich genaueres untersuchen zu können, müsste man die Schwere der Infektionen im Vergleich mit den ELISpots untersuchen. Aus dem generellen Vergleich ließ sich kein Nutzen für die Einschätzung des Infektionsrisikos ziehen.

In einer anderen Studie wurde festgestellt, dass die IFN- γ -Spiegel bei Patienten mit mehreren Infektionen nach Tx bis zu sechs Monate signifikant niedriger waren (117). Abstoßungen korrelierten aber nicht mit den IFN- γ -Spiegeln. Um die IFN- γ -Spiegel nutzen zu können und damit das Infektionsrisiko nach NTX einzuschätzen, sollten weitere Untersuchungen durchgeführt werden.

Auch gab es eine Studie in China, die zeigte, dass bestimmte T-Lymphozyten-assoziierte Protein-4-Polymorphismen ein erhöhtes Risiko für Virusinfektionen aufzeigte (118).

In einer weiteren Studie zeigte sich, dass die Funktion der natürlichen Killerzellen eine schwere Infektion bei Empfängern von Nierentransplantaten voraussagen kann (119).

Insgesamt ist nicht zu vernachlässigen, dass es neben den Infektionen als solchen noch Faktoren wie Diabetes, Adipositas, Ernährungszustand und Dialyse vor der Transplantation gibt, die auch einen Einfluss auf den Zustand des Immunsystems haben und schwer einschätzbar sind (120-123).

Generell gibt es in der Forschung viele Ansätze, um das Infektionsrisiko besser einschätzen zu können. Bisher hat sich in der Klinik, abgesehen von dem Überwachen der Transplantatfunktion, kein anderer Test in der Praxis durchgesetzt. Daher basiert die Einschätzung während einer Infektion bisher überwiegend auf klinischer Erfahrung.

4.6 BKV

Neben CMV stellte sich BKV in der Studie als ein häufiger Virus nach NTX heraus. Es zeigte sich vor allem, dass es schon nach vier Wochen zu BK-Virämien kam und Patienten über mehrere Monate BK-Virämien hatten, die dann in einer BKVN endeten.

Patienten mit einem BKV-Event hatten nach drei und nach sechs Monaten signifikant niedrigere IE-1-Spots als Patienten ohne BKV-Event. Fraglich ist, ob der T-Track® CMV ELISpot auch anwendbar ist, um speziell eine BK-Virämie hervorsagen zu können oder die Patienten einfach generell aufgrund der Infektion weniger messbare T-Zellen hatten. Zudem konnten wir auch hier nur die ELISpots der CMV-seropositiven Patienten zum Vergleich nutzen, weil nur diese Spots gezeigt haben. Es gab aber auch viele Patienten, die CMV-seronegativ waren und eine BK-Virämie hatten. Somit wäre der Test auch nur auf eine ausgewählte Patientengruppe anwendbar. Der klinische Nutzen in Bezug auf die Überwachung von BKV nach NTX bleibt daher offen. Auch auffallend ist, dass in diesem Fall IE-1 eine größere Rolle als pp65 spielte, wohingegen es bei den CMV-Reaktivierungen anders war und generell pp65 eine höhere Anzahl an Spots zeigte als IE-1.

Einige Studien empfahlen eine BKV-spezifische Immunüberwachung, vor allem als prognostisches Instrument und um Patienten mit einem Risiko für eine BKV-Nephropathie identifizieren zu können (124-126). Bisher werden in der Klinik aber nur regelmäßig quantitative PCRs zur Bestimmung von BK-Virämien durchgeführt.

4.7 Abstoßungen

Insgesamt hatten nur 13 Personen eine Abstoßung und davon waren auch nicht alle CMV-seropositiv. Daher war ein Vergleich der ELISpots mit der geringen Stichprobe schwierig. Festgestellt wurde, dass Patienten, die bereits einmal eine Abstoßung hatten, ein erhöhtes Risiko hatten, erneut eine Abstoßung zu entwickeln. Vor allem direkt nach NTX kam es zu

Abstoßungen, wohingegen nach sechs und zwölf Monaten kein Patient eine akute Abstoßung hatte.

Beim Vergleich der ELISpots der Patienten mit und ohne Abstoßung zeigten sich entgegen der Hypothese, dass eine erhöhte Spotanzahl das Risiko für eine Transplantatabstoßung erhöhen würde, bei den Patienten mit Abstoßungen weniger Spots (nicht signifikant). Dies könnte auch daran liegen, dass sich die Patienten mit den Abstoßungen generell in keinem guten Allgemeinzustand befanden und ihr Immunsystem nicht stabil war.

Studien, die untersucht haben, wie das Risiko für Abstoßungen besser eingeschätzt werden kann, haben gezeigt, dass vor allem das Vorhandensein von persistierenden oder *de novo* HLA-Antikörpern nach der Transplantation mit einem Transplantatverlust verbunden ist (62, 127). Dies wurde in der Studie nicht betrachtet, spielt aber in Hinblick auf die Einschätzung des Risikos einer Abstoßung eine große Rolle.

Aktuell werden Abstoßungen mit einer Nierenbiopsie diagnostiziert und das Risiko für eine Abstoßung mit einer verschlechterten Transplantatfunktion, die sich vor allem in einem erhöhten Serum-Kreatinin und einer Proteinurie zeigen kann, eingeschätzt. Ein einzelner Test, um das Risiko besser einschätzen zu können, existiert bisher nicht, wäre aber ein hilfreiches Instrument.

4.8 Immunmonitoring

Wie bereits aus den vorherigen Abschnitten hervorgehend, eignete der T-Track® CMV sich nicht dazu den Grad der Immunsuppression zu bestimmen. Das Wissen um den individuellen Status der Immunsuppression würde helfen, um die medikamentöse Einstellung zu optimieren und das Risiko für Infektionen und Abstoßungen besser einschätzen zu können. Neben dem Ansatz, wie in der Studie die T-Zell-Reaktivität auf CMV-spezifische Antigene dafür zu nutzen, gibt es in der Forschung auch andere Vorschläge.

In anderen Studien konnte gezeigt werden, dass das Torque-Teno-Virus (TTV) mit dem Grad der Immunsuppression zusammenhängt. Es zeigte sich, dass höhere TTV-Spiegel mit einer verringerten Abstoßung, aber einem erhöhten Infektionsrisiko verbunden sind (128-132). Sicherlich wäre es daher sinnvoll sich weiter darauf zu konzentrieren, TTV-Spiegel in der Klinik routiniert zu überprüfen und in das Konzept der immunsuppressiven Strategien nach NTX miteinzubinden. Aktuell zeigt sich dies noch nicht in der Praxis. Eine Etablierung und Untersuchung, ob sich dieses Konzept in den Klinikalltag der Transplantationszentren integrieren lässt, wäre zukunftsorientiert.

4.9 Schlussfolgerung und Ausblick

In der vorgestellten Studie konnte gezeigt werden, dass der T-Track® CMV ELISpot bei Nierentransplantierten, die einen CMV-positiven Status hatten, die T-Zell-Reaktivität auf die CMV-spezifischen Antigene IE-1 und pp65 messen kann. Außerdem konnte festgestellt werden, dass sich das Assay eignen könnte, um ein erhöhtes Risiko für eine bevorstehende CMV-Reaktivierung zu messen.

Insgesamt eignete sich der Test aber nicht, um den Grad der Immunsuppression festzustellen und somit einen bevorstehenden Infekt oder eine bevorstehende Abstoßung vorhersagen zu können.

Die aktuelle Strategie die CMV-Konstellation der Organspender- und Empfänger vor NTX zu ermitteln und anhand dessen das Risiko einer bevorstehenden CMV-Erkrankung einzuschätzen, sowie die CMV-Prophylaxe-Strategie festzulegen, scheint ausbaufähig. Denn das individuelle Risiko einer CMV-Erkrankung ist dadurch nicht vollständig abschätzbar und in vielen Studien wurde die CMV-spezifische T-Zell-Immunität als wegweisender Pfeiler für die Risikoeinschätzung auch bereits vor NTX gezeigt (133-136).

Unsere Daten und Ergebnisse aus anderen Studien bestätigen, dass ELISpots nützliche prognostische Informationen über das Infektionsrisiko, den klinischen Verlauf der Krankheit und das Ansprechen auf eine antivirale Therapie liefern könnten.

Die Zukunft des CMV ELISpot-Tests im klinischen Alltag als immunologischer Routinetest ist vermutlich durch technische Komplexität und fehlende Standardisierung begrenzt. Außerdem wird nicht zwischen CD4+ und CD8+ T-Zellen unterschieden (137). Im optimalen Fall sollten weitere interventionelle Studien durchgeführt werden, bei denen aufgrund von CMV-ELISpots Behandlungsentscheidungen getroffen werden. Dies könnte man auch durch Steuerung der Prophylaxe oder Festlegung, bei welcher Viruslast die Patienten genau behandelt werden, durchführen.

Zusammenfassend konnten die Hypothesen, dass der T-Track® CMV ELISpot die Reaktionsfähigkeit von T-Lymphozyten gegen (Virus-) Antigene mittels IFN γ Sekretion messen kann und das Risiko einer CMV - Reaktivierung mittels T-Track® CMV ELISpot eingeschätzt werden kann, bestätigt werden.

Somit kann der T-Track® CMV ELISpot dazu dienen, eine bevorstehende CMV-Reaktivierung zu erkennen und als nützliches Tool für eine Therapieanpassung sorgen.

Den Grad der Immunsuppression festzustellen, ist weiterhin eine komplexe Frage und bedarf weiterer Studien. Vielversprechende Ansätze, wie das Bestimmen des TTV-Spiegels, scheinen besser geeignet als das Verwenden von CMV ELISpots. Bei allen Ideen

diesbezüglich sollten in der Zukunft der klinische Nutzen sowie die praktische Umsetzung im Klinikalltag untersucht werden. Ein standardisiertes Protokoll darüber, wie das Risiko eines Patienten eingeschätzt werden könnte, nach einer NTX eine Infektion oder eine Abstoßung zu erleiden wäre wünschenswert und hilfreich, um die Immunsuppression individueller optimieren und eine lange Transplantatfunktion gewährleisten zu können.

5 Zusammenfassung

Hintergrund: Die durch eine NTX notwendige, lebenslange Einnahme von immunsuppressiven Medikamenten bringt viele Nebenwirkungen mit sich. Um eine gute, langfristige Funktion des Nierentransplantats gewährleisten zu können, ist es notwendig, die Immunsuppressiva so zu dosieren, dass sie hoch genug sind, um eine Abstoßung vorzubeugen und so niedrig, dass es nicht zu einer zu starken Unterdrückung des Immunsystems kommt und dadurch vermehrt Infektionen entstehen können. Der Grad der Immunsuppression wird aktuell durch die Bestimmung der Talspiegel immunsuppressiver Medikamente sowie der Kontrolle der Transplantatfunktion bestimmt. Es gibt keinen spezifischen Test, der den Status der Immunsuppression bestimmen kann. In anderen Studien wurde gezeigt, dass die T-Zell-Reaktivität auf CMV-spezifische Antigene einen Hinweis auf den Status der Immunsuppression geben kann.

Ziele: Das Ziel der Studie war es, prospektiv mit den mehrfach durchgeführten CMV-spezifischen ELISpots den Grad der Immunsuppression bestimmen und somit eine Aussage über das Infektions- und Abstoßungsrisiko treffen zu können. Speziell das Verwenden der ELISpots, um das Risiko von CMV-Reaktivierungen einzuschätzen, sollte untersucht werden.

Methoden: Von den Patienten, die eine NTX zwischen dem 01.08.2019 und dem 31.12.2021 in der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie (AVTC; Univ.-Prof. Dr. Hauke Lang) der Universitätsmedizin Mainz erhalten haben, wurde vor der NTX, nach vier Wochen, sowie nach drei, sechs und zwölf Monaten ein ELISpot mit dem T-Track® CMV Kit (Lophius Biosciences GmbH, Regensburg, Deutschland) durchgeführt und stattgehabte Infektionen und Abstoßungen dokumentiert. Bei den ELISpots wurden die PBMCs der Patienten mit den CMV-spezifischen Antigenen pp65 und IE-1 stimuliert. Nach Auswertung der ELISpots und Sammeln der Daten, wurden diese in einer Datenbank zusammengestellt und statistisch ausgewertet.

Ergebnisse: Es konnten 71 Patienten eingeschlossen werden, von denen 44 Patienten CMV-seropositiv waren und deren ELISpots daher im Verlauf untersucht werden konnten. Nur CMV-seropositive Patienten hatten positive ELISpots. Die Spot-Anzahl war sowohl bei IE-1 als auch bei pp65 im Verlauf zunehmend und am höchsten nach zwölf Monaten. Bei pp65 zeigten sich immer höhere Spots im Vergleich zu IE-1 ($p=0,037$). Die Spots korrelierten nicht mit den Tacrolimus-Spiegeln oder der Methylprednisolon-Dosis. Insgesamt zeigten sich nicht mehr Spots bei den Patienten, die eine Abstoßung hatten und Patienten, die eine Infektion hatten, zeigten auch nicht weniger Spots vor den Infekten. 38 % der Patienten hatten ein CMV-Event und 13/44 entwickelten eine CMV-Reaktivierung. Die Patienten, die in den zwölf Monaten nach NTX eine CMV-Reaktivierung hatten, wiesen signifikant weniger pp65-Spots auf als die Patienten ohne eine CMV-Reaktivierung ($p<0,01$). Außerdem hatten die Patienten, die nach

vier Wochen eine CMV-Reaktivierung hatten, nach vier Wochen signifikant niedrigere pp65 Spots als Patienten ohne CMV-Reaktivierung zu diesem Zeitpunkt ($p=0,026$). 55,5 % der Non-Responder hatten eine CMV-Reaktivierung und Patienten mit höheren Spots hatten weniger CMV-Reaktivierungen. 28,2 % der Patienten hatten ein BKV-Event und diese Patienten hatten zu allen Zeitpunkten weniger IE-1- und pp65-Spots als die Patienten ohne ein BKV-Event. Nach drei und nach sechs Monaten waren die IE-1 Spots signifikant niedriger (3 Monate $p=0,017$; 6 Monate $p=0,007$).

Schlussfolgerungen: Der T-Track® CMV ELISpot ist dafür geeignet, die T-Zell-Reaktivität auf die CMV-spezifischen Antigene IE-1 und pp65 zu messen. Die Zunahme der Spotanzahl im zwölfmonatigen Verlauf schien sich durch die Reduzierung der Immunsuppression und den verbesserten Allgemeinzustand zu erklären. pp65 war als Marker besser geeignet als IE-1. Der ELISpot kann einen Hinweis auf eine bevorstehende CMV-Reaktivierung geben und könnte somit ein geeigneter Test sein, um bei CMV-seropositiven Patienten bereits vor der NTX das Risiko einzuschätzen und die Immunsuppression umzustellen. Um den Grad der Immunsuppression und somit das Risiko für bevorstehende Infektionen und Abstoßungen einzuschätzen, scheint der Test nicht geeignet.

6 Literaturverzeichnis

1. (IQWiG) IfQuWiG. Nierentransplantationen: Bessere Ergebnisse bei größeren Fallzahlen ableitbar <https://www.iqwig.de> [Internet]. Letzte Aktualisierung: 22.05.2020. Zitiert am: 19.08.2022. https://www.iqwig.de/presse/pressemitteilungen/pressemitteilungen-detailseite_9947.html#:~:text=Die%20h%C3%A4ufigste%20Organtransplantation%20in%20Deutschland&text=Die%20Nierentransplantation%20ist%20in%20Deutschland,und%20638%20Nieren%20nach%20Lebendspende.2020.
2. Schulz KH, Thaiss F. [Long-term outcome with end-stage renal disease - survival is not enough: does dialysis or kidney transplantation matter?]. Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz. 2012;55(4):543-51.
3. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LY, et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. The New England journal of medicine. 1999;341(23):1725-30.
4. Organtransplantation DS. DSO Jahresbericht 2021 [Internet] <https://www.dso.de> . Zitiert am: 19.08.2022. URL: <https://www.dso.de/SiteCollectionDocuments/DSO-Jahresbericht%202021.pdf2021>.
5. Study CT. Kidney Graft Survival, Europe. K-15103E-0222 [Internet] Zitiert am: 19.08.2022. URL:<https://www.ctstransplant.org/servlet/ArchiveServlet?group=K-15103E-0222&archivemode=false&ts=1660908657357> 2020.
6. Einecke G, Sis B, Reeve J, Mengel M, Campbell PM, Hidalgo LG, et al. Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. Am J Transplant. 2009;9(11):2520-31.
7. León LM, González García E, López MO, Afonso S, Santana MJ, Jiménez C. [Immunosuppressive drugs and transplant protocols.]. Archivos españoles de urología. 2021;74(10):1002-12.
8. Fishman JA. Infection in solid-organ transplant recipients. The New England journal of medicine. 2007;357(25):2601-14.
9. Gjersvik P, Helsing P, Holdaas H, Bergan S. [Immunosuppressive drugs and the development of skin cancer after organ transplantation]. Tidsskrift for den Norske laegeforening : tidsskrift for praktisk medicin, ny raekke. 2012;132(18):2064-8.
10. Chapman JR, Webster AC, Wong G. Cancer in the transplant recipient. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2013;3(7).
11. Mecadon K. Managing Side Effects of Immunosuppressants. Rhode Island medical journal (2013). 2021;104(1):31-3.
12. Lachmann R, Loenenbach A, Waterboer T, Brenner N, Pawlita M, Michel A, et al. Cytomegalovirus (CMV) seroprevalence in the adult population of Germany. PLoS One. 2018;13(7):e0200267.
13. Banas B, Steubl D, Renders L, Chittka D, Banas MC, Wekerle T, et al. Clinical validation of a novel enzyme-linked immunosorbent spot assay-based in vitro diagnostic assay to monitor cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity in kidney transplant recipients: a multicenter, longitudinal, prospective, observational study. Transpl Int. 2018;31(4):436-50.
14. Fornara P, Hamza A. Nierentransplantation. In: Hautmann R, editor. Urologie. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2010. p. 481-90.
15. Shah Y, Almeshari K, Broering D, Aleid H, Brockmann J, Alhumaidan H, et al. ABO-Incompatible Kidney Transplantation: Low Rates of Infectious Complications and Excellent Patient Survival. Transplantation proceedings. 2019;51(2):512-6.
16. Pandey P, Setya D, Sinha V, Bhatt A, Devra A, Chaudhary A, et al. Therapeutic apheresis in ABO-incompatible kidney and liver transplantation: A single-center experience of 50 patients. Therapeutic apheresis and dialysis : official peer-reviewed journal of the International Society for Apheresis, the Japanese Society for Apheresis, the Japanese Society for Dialysis Therapy. 2021;25(1):103-17.
17. Goto R, Ito M, Kawamura N, Watanabe M, Ganchiku Y, Kamiyama T, et al. The impact of preformed donor-specific antibodies in living donor liver transplantation according to graft volume. Immunity, inflammation and disease. 2022;10(3):e586.

18. Nicholson LB. The immune system. *Essays in biochemistry*. 2016;60(3):275-301.
19. Kenneth Murphy CW. *Janeway Immunologie*. 9 ed. Deutschland: Springer-Verlag GmbH; 2018.
20. Shrestha BM. Immune System and Kidney Transplantation. *JNMA; journal of the Nepal Medical Association*. 2017;56(208):482-6.
21. Bauer AC, Franco RF, Manfro RC. Immunosuppression in Kidney Transplantation: State of the Art and Current Protocols. *Current pharmaceutical design*. 2020;26(28):3440-50.
22. Beimler J, Morath C, Zeier M. Moderne Immunsuppression nach Organtransplantation. *Der Internist*. 2014;55(2):212-22.
23. Kamal J, Doyle A. Immunosuppression and Kidney Transplantation. *Handbook of experimental pharmacology*. 2022;272:165-79.
24. Paliege A, Bamoulid J, Bachmann F, Staeck O, Halleck F, Khadzhynov D, et al. Immunsuppression und Ergebnisse in der Nierentransplantation. *Der Urologe*. 2015;54(10):1376-84.
25. Türk TR, Witzke O, Zeier M. KDIGO-Leitlinien zur Betreuung von Nierentransplantatempfängern. *Der Nephrologe*. 2010;5(2):94-107.
26. Coutinho AE, Chapman KE. The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Molecular and cellular endocrinology*. 2011;335(1):2-13.
27. Steiner RW, Awdishu L. Steroids in kidney transplant patients. *Seminars in immunopathology*. 2011;33(2):157-67.
28. Hwang YH, Kim H, Min K, Yang J. Tacrolimus trough levels in kidney transplant recipients. *BMC nephrology*. 2021;22(1):405.
29. Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, Vitko S, Nashan B, Gürkan A, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *The New England journal of medicine*. 2007;357(25):2562-75.
30. Satoh S, Miura M. [Therapeutic Drug Monitoring of Immunosuppressive Drugs]. *Rinsho byori The Japanese journal of clinical pathology*. 2016;64(12):1381-9.
31. Hart A, Singh D, Brown SJ, Wang JH, Kasiske BL. Incidence, risk factors, treatment, and consequences of antibody-mediated kidney transplant rejection: A systematic review. *Clinical transplantation*. 2021;35(7):e14320.
32. Guberina H, Sava M, Witzke O. [Infectious diseases in immunocompromised patients]. *Nephrologe*. 2016;11(6):388-95.
33. Kemmner S, Schönermarck U. Infektionen unter Immunsuppression nach Nierentransplantation. *Dialyse aktuell*. 2020;24(08):309-18.
34. Meena P, Bhargava V, Rana DS, Bhalla AK. Urinary tract infection in renal transplant recipient: A clinical comprehensive review. *Saudi journal of kidney diseases and transplantation : an official publication of the Saudi Center for Organ Transplantation, Saudi Arabia*. 2021;32(2):307-17.
35. Gupta M SM. Cytomegalovirus. *StatPearls [Internet]*. Schatzinsel (FL): StatPearls Publishing; [Aktualisiert am 20. Mai 2022].2022.
36. Koch-Institut R. Zytomegalievirus-Infektion RKI-Ratgeber [Internet]. Letzte Aktualisierung: 20.01.2014. Zitiert am: 19.08.2022. URL:https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Zytomegalievirus.html2014.
37. Dioverti MV, Razonable RR. Cytomegalovirus. *Microbiology spectrum*. 2016;4(4).
38. Hecker M, Qiu D, Marquardt K, Bein G, Hackstein H. Continuous cytomegalovirus seroconversion in a large group of healthy blood donors. *Vox sanguinis*. 2004;86(1):41-4.
39. Kliem V, Sester M, Nitschke M, Tönshoff B, Budde K, Hauser IA, et al. Cytomegalievirus bei Nierentransplantation – Diagnose, Prävention und Management. *Dtsch Med Wochenschr*. 2015;140(08):612-5.
40. Raval AD, Kistler KD, Tang Y, Murata Y, Snyderman DR. Epidemiology, risk factors, and outcomes associated with cytomegalovirus in adult kidney transplant recipients: A systematic literature review of real-world evidence. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society*. 2021;23(2):e13483.

41. Cannon MJ, Hyde TB, Schmid DS. Review of cytomegalovirus shedding in bodily fluids and relevance to congenital cytomegalovirus infection. *Reviews in medical virology*. 2011;21(4):240-55.
42. Kim J, Lee S. Ocular Ischemic Syndrome as the Initial Presenting Feature of Cytomegalovirus Retinitis. *Korean journal of ophthalmology : KJO*. 2018;32(5):428-9.
43. Requião-Moura LR, deMatos AC, Pacheco-Silva A. Cytomegalovirus infection in renal transplantation: clinical aspects, management and the perspectives. *Einstein (Sao Paulo, Brazil)*. 2015;13(1):142-8.
44. Al Atbee MYN, Tuama HS. Cytomegalovirus infection after renal transplantation. *Journal of medicine and life*. 2022;15(1):71-7.
45. Helanterä I, Koskinen P, Tornroth T, Loginov R, Gronhagen-Riska C, Lautenschlager I. The impact of cytomegalovirus infections and acute rejection episodes on the development of vascular changes in 6-month protocol biopsy specimens of cadaveric kidney allograft recipients. *Transplantation*. 2003;75(11):1858-64.
46. Baldanti F, Lilleri D, Gerna G. Monitoring human cytomegalovirus infection in transplant recipients. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2008;41(3):237-41.
47. de la Hoz RE, Stephens G, Sherlock C. Diagnosis and treatment approaches of CMV infections in adult patients. *Journal of Clinical Virology*. 2002;25:1-12.
48. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Asberg A, Chou S, Danziger-Isakov L, et al. Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation*. 2013;96(4):333-60.
49. Sagedal S, Hartmann A, Nordal KP, Osnes K, Leivestad T, Foss A, et al. Impact of early cytomegalovirus infection and disease on long-term recipient and kidney graft survival. *Kidney international*. 2004;66(1):329-37.
50. Puttini C, Carmellini M, Garosi G, Rossetti B, Riccio ML, Tordini G, et al. HCMV infection in renal transplant recipients: a retrospective cohort study. *The new microbiologica*. 2013;36(4):363-71.
51. Yoshihara R, Komai T, Shoda H, Fujio K. Elevation of cytomegalovirus antigenemia predicts serious infection and death in patients receiving immunosuppressive therapies for autoimmune diseases. *International Journal of Rheumatic Diseases*. 2020;23(11):1534-40.
52. Ishikawa S, Tasaki M, Saito K, Nakagawa Y, Ikeda M, Takahashi K, et al. Long-term CMV monitoring and chronic rejection in renal transplant recipients. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2023;13:1190794.
53. Zavaglio F, Rivela F, Cassaniti I, Arena F, Gabanti E, Asti AL, et al. ELISPOT assays with pp65 peptides or whole HCMV antigen are reliable predictors of immune control of HCMV infection in seropositive kidney transplant recipients. *Journal of medical virology*. 2023;95(2):e28507.
54. Reddehase MJ, Simon CO, Podlech J, Holtappels R. Stalemating a clever opportunist: lessons from murine cytomegalovirus. *Human immunology*. 2004;65(5):446-55.
55. Bestard O, Lucia M, Crespo E, Van Liempt B, Palacio D, Melilli E, et al. Pretransplant immediately early-1-specific T cell responses provide protection for CMV infection after kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13(7):1793-805.
56. Gardner SD, Field AM, Coleman DV, Hulme B. New human papovavirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation. *Lancet (London, England)*. 1971;1(7712):1253-7.
57. Goudsmit J, Wertheim-van Dillen P, van Strien A, van der Noordaa J. The role of BK virus in acute respiratory tract disease and the presence of BKV DNA in tonsils. *Journal of medical virology*. 1982;10(2):91-9.
58. Stolt A, Sasnauskas K, Koskela P, Lehtinen M, Dillner J. Seroepidemiology of the human polyomaviruses. *The Journal of general virology*. 2003;84(Pt 6):1499-504.
59. Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, Passweg J, Klimkait T, Mihatsch MJ, et al. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. *The New England journal of medicine*. 2002;347(7):488-96.
60. Sharma R, Tzetzio S, Patel S, Zachariah M, Sharma S, Melendy T. BK Virus in Kidney Transplant: Current Concepts, Recent Advances, and Future Directions. *Exp Clin Transplant*. 2016;14(4):377-84.

61. van Aalderen MC, Heutinck KM, Huisman C, ten Berge IJ. BK virus infection in transplant recipients: clinical manifestations, treatment options and the immune response. *The Netherlands journal of medicine*. 2012;70(4):172-83.
62. Sellarés J, de Freitas DG, Mengel M, Reeve J, Einecke G, Sis B, et al. Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *Am J Transplant*. 2012;12(2):388-99.
63. Becker LE, Morath C, Suesal C. Immune mechanisms of acute and chronic rejection. *Clinical biochemistry*. 2016;49(4-5):320-3.
64. Joosten SA, Sijpkens YW, van Kooten C, Paul LC. Chronic renal allograft rejection: pathophysiologic considerations. *Kidney international*. 2005;68(1):1-13.
65. Cornell LD. Histopathologic Features of Antibody Mediated Rejection: The Banff Classification and Beyond. *Frontiers in immunology*. 2021;12:718122.
66. van Delden C, Stampf S, Hirsch HH, Manuel O, Meylan P, Cusini A, et al. Burden and Timeline of Infectious Diseases in the First Year After Solid Organ Transplantation in the Swiss Transplant Cohort Study. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2020;71(7):e159-e69.
67. San Juan R, Aguado JM, Lumbreras C, Díaz-Pedroche C, López-Medrano F, Lizasoain M, et al. Incidence, clinical characteristics and risk factors of late infection in solid organ transplant recipients: data from the RESITRA study group. *Am J Transplant*. 2007;7(4):964-71.
68. Kinnunen S, Karhapää P, Juutilainen A, Finne P, Helanterä I. Secular Trends in Infection-Related Mortality after Kidney Transplantation. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. 2018;13(5):755-62.
69. Akache B, McCluskie MJ. The Quantification of Antigen-Specific T Cells by IFN- γ ELISpot. *Methods in molecular biology (Clifton, NJ)*. 2021;2183:525-36.
70. Ranieri E, Netti GS, Gigante M. CTL ELISPOT Assay and T Cell Detection. *Methods in molecular biology (Clifton, NJ)*. 2021;2325:65-77.
71. Banas B, Böger CA, Lückhoff G, Krüger B, Barabas S, Batzilla J, et al. Validation of T-Track® CMV to assess the functionality of cytomegalovirus-reactive cell-mediated immunity in hemodialysis patients. *BMC immunology*. 2017;18(1):15.
72. Girmanova E, Hrubá P, Viklický O, Slavcev A. ELISpot assay and prediction of organ transplant rejection. *International journal of immunogenetics*. 2022;49(1):39-45.
73. Kim T, Lee HJ, Kim SM, Jung JH, Shin S, Kim YH, et al. Diagnostic usefulness of the cytomegalovirus (CMV)-specific T cell-based assay for predicting CMV infection after kidney transplant. *The Korean journal of internal medicine*. 2020;35(2):438-48.
74. Higdon LE, Gustafson CE, Ji X, Sahoo MK, Pinsky BA, Margulies KB, et al. Association of Premature Immune Aging and Cytomegalovirus After Solid Organ Transplant. *Frontiers in immunology*. 2021;12:661551.
75. Molina-Ortega A, Martín-Gandul C, Mena-Romo JD, Rodríguez-Hernández MJ, Suñer M, Bernal C, et al. Impact of pretransplant CMV-specific T-cell immune response in the control of CMV infection after solid organ transplantation: a prospective cohort study. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2019;25(6):753-8.
76. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Huprikar S, Chou S, Danziger-Isakov L, et al. The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-organ Transplantation. *Transplantation*. 2018;102(6):900-31.
77. Cox JH, Ferrari G, Janetzki S. Measurement of cytokine release at the single cell level using the ELISPOT assay. *Methods (San Diego, Calif)*. 2006;38(4):274-82.
78. Lehmann PV, Zhang W. Unique strengths of ELISPOT for T cell diagnostics. *Methods in molecular biology (Clifton, NJ)*. 2012;792:3-23.
79. Diagnostik M. T-Track® CMV [Internet] <https://www.mikrogen.de>. Letzte Aktualisierung: 04/22. Zitiert am: 19.08.20222022.
80. Coughlan L, Lambe T. Measuring Cellular Immunity to Influenza: Methods of Detection, Applications and Challenges. *Vaccines*. 2015;3(2):293-319.
81. Fernández-Ruiz M, Giménez E, Vinuesa V, Ruiz-Merlo T, Parra P, Amat P, et al. Regular monitoring of cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity in intermediate-risk

- kidney transplant recipients: predictive value of the immediate post-transplant assessment. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2019;25(3):381.e1-.e10.
82. Cunha L, Laranjinha I, Birne R, Jorge C, Carvalho TJ, Lança A, et al. Late Cytomegalovirus Infection in Kidney Transplant Recipients after a Six-Month Prevention Protocol. *International journal of organ transplantation medicine*. 2019;10(1):1-12.
83. Organtransplantation DS. Nierentransplantation 2019 Tätigkeitsbericht. <https://dso.de> [Internet]. Zitiert am: 24.08.2022 2019.
84. Zuhair M, Smit GSA, Wallis G, Jabbar F, Smith C, Devleeschauwer B, et al. Estimation of the worldwide seroprevalence of cytomegalovirus: A systematic review and meta-analysis. *Reviews in medical virology*. 2019;29(3):e2034.
85. Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. *Reviews in medical virology*. 2010;20(4):202-13.
86. Kothari R, Tolles J, Adelman D, Lewis RJ, Malinoski DJ, Niemann CU. Organ donor management goals and delayed graft function in adult kidney transplant recipients. *Clinical transplantation*. 2022;36(2):e14528.
87. Campistol JM, de Fijter JW, Nashan B, Holdaas H, Vítko S, Legendre C. Everolimus and long-term outcomes in renal transplantation. *Transplantation*. 2011;92(3 Suppl):S3-26.
88. López-Oliva MO, Martínez V, Buitrago A, Jiménez C, Rivas B, Escuin F, et al. Pretransplant CD8 T-cell response to IE-1 discriminates seropositive kidney recipients at risk of developing CMV infection posttransplant. *Transplantation*. 2014;97(8):839-45.
89. Bunde T, Kirchner A, Hoffmeister B, Habedank D, Hetzer R, Cherepnev G, et al. Protection from cytomegalovirus after transplantation is correlated with immediate early 1-specific CD8 T cells. *The Journal of experimental medicine*. 2005;201(7):1031-6.
90. 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*. 2007;7(8):1997-2005.
91. Eid AJ, Brown RA, Arthurs SK, Lahr BD, Eckel-Passow JE, Larson TS, et al. A prospective longitudinal analysis of cytomegalovirus (CMV)-specific CD4+ and CD8+ T cells in kidney allograft recipients at risk of CMV infection. *Transpl Int*. 2010;23(5):506-13.
92. Fehr T, Cippà PE, Mueller NJ. Cytomegalovirus post kidney transplantation: prophylaxis versus pre-emptive therapy? *Transpl Int*. 2015;28(12):1351-6.
93. Schaenman J, Phonphok K, Spanuchart I, Duong T, Sievers TM, Lum E, et al. Early cytomegalovirus DNAemia and antiviral dose adjustment in high vs intermediate risk kidney transplant recipients. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society*. 2021;23(1):e13457.
94. Stevens DR, Sawinski D, Blumberg E, Galanakis N, Bloom RD, Trofe-Clark J. Increased risk of breakthrough infection among cytomegalovirus donor-positive/recipient-negative kidney transplant recipients receiving lower-dose valganciclovir prophylaxis. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society*. 2015;17(2):163-73.
95. Tängdén T, Cojutti PG, Roberts JA, Pea F. Valganciclovir Pharmacokinetics in Patients Receiving Oral Prophylaxis Following Kidney Transplantation and Model-Based Predictions of Optimal Dosing Regimens. *Clinical pharmacokinetics*. 2018;57(11):1399-405.
96. Vincenti F, Budde K, Merville P, Shihab F, Ram Peddi V, Shah M, et al. A randomized, phase 2 study of ASP0113, a DNA-based vaccine, for the prevention of CMV in CMV-seronegative kidney transplant recipients receiving a kidney from a CMV-seropositive donor. *Am J Transplant*. 2018;18(12):2945-54.
97. Hjelmessaeth J, Sagedal S, Hartmann A, Rollag H, Egeland T, Hagen M, et al. Asymptomatic cytomegalovirus infection is associated with increased risk of new-onset diabetes mellitus and impaired insulin release after renal transplantation. *Diabetologia*. 2004;47(9):1550-6.
98. Hodson EM, Jones CA, Webster AC, Strippoli GF, Barclay PG, Kable K, et al. Antiviral medications to prevent cytomegalovirus disease and early death in recipients of solid-organ

- transplants: a systematic review of randomised controlled trials. *Lancet* (London, England). 2005;365(9477):2105-15.
99. Freeman RB, Jr. The 'indirect' effects of cytomegalovirus infection. *Am J Transplant*. 2009;9(11):2453-8.
100. L'Huillier AG, Ferreira VH, Ku T, Bahinskaya I, Kumar D, Humar A. Improving our mechanistic understanding of the indirect effects of CMV infection in transplant recipients. *Am J Transplant*. 2019;19(9):2495-504.
101. Levitsky J, Freifeld AG, Puumala S, Bargenquast K, Hardiman P, Gebhart C, et al. Cytomegalovirus viremia in solid organ transplantation: does the initial viral load correlate with risk factors and outcomes? *Clinical transplantation*. 2008;22(2):222-8.
102. Hadaya K, Wunderli W, Deffernez C, Martin PY, Mentha G, Binet I, et al. Monitoring of cytomegalovirus infection in solid-organ transplant recipients by an ultrasensitive plasma PCR assay. *Journal of clinical microbiology*. 2003;41(8):3757-64.
103. Lisboa LF, Kumar D, Wilson LE, Humar A. Clinical utility of cytomegalovirus cell-mediated immunity in transplant recipients with cytomegalovirus viremia. *Transplantation*. 2012;93(2):195-200.
104. Rittà M, Costa C, Sidoti F, Ballocco C, Ranghino A, Messina M, et al. Pre-transplant assessment of CMV-specific immune response by Elispot assay in kidney transplant recipients. *The new microbiologica*. 2015;38(3):329-35.
105. Ruan Y, Guo W, Liang S, Xu Z, Niu T. Diagnostic performance of cytomegalovirus (CMV) immune monitoring with ELISPOT and QuantiFERON-CMV assay in kidney transplantation: A PRISMA-compliant article. *Medicine*. 2019;98(16):e15228.
106. Gardiner BJ, Nierenberg NE, Chow JK, Ruthazer R, Kent DM, Snyderman DR. Absolute Lymphocyte Count: A Predictor of Recurrent Cytomegalovirus Disease in Solid Organ Transplant Recipients. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2018;67(9):1395-402.
107. Nierenberg NE, Poutsiaika DD, Chow JK, Cooper J, Price LL, Freeman RB, et al. Pretransplant lymphopenia is a novel prognostic factor in cytomegalovirus and noncytomegalovirus invasive infections after liver transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2014;20(12):1497-507.
108. Fernández-Ruiz M, López-Medrano F, Romo EM, Allende LM, Meneu JC, Fundora-Suárez Y, et al. Pretransplant lymphocyte count predicts the incidence of infection during the first two years after liver transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2009;15(10):1209-16.
109. Hauser IA, Marx S, Sommerer C, Suwelack B, Dragun D, Witzke O, et al. Effect of everolimus-based drug regimens on CMV-specific T-cell functionality after renal transplantation: 12-month ATHENA subcohort-study results. *European journal of immunology*. 2021;51(4):943-55.
110. Kaminski H, Marseres G, Yared N, Nokin MJ, Pitard V, Zouine A, et al. mTOR Inhibitors Prevent CMV Infection through the Restoration of Functional $\alpha\beta$ and $\gamma\delta$ T cells in Kidney Transplantation. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2022;33(1):121-37.
111. Wolf S, Hoffmann VS, Sommer F, Schrepf M, Li M, Ryll M, et al. Effect of Sirolimus vs. Everolimus on CMV-Infections after Kidney Transplantation-A Network Meta-Analysis. *Journal of clinical medicine*. 2022;11(14).
112. Favi E, Santangelo R, Iesari S, Morandi M, Marcovecchio GE, Trecarichi EM, et al. Enzyme-Linked Immunospot Assay as a Complementary Method to Assess and Monitor Cytomegalovirus Infection in Kidney Transplant Recipients on Pre-emptive Antiviral Therapy: A Single-Center Experience. *Transplantation proceedings*. 2017;49(8):1766-72.
113. Egli A, Binet I, Binggeli S, Jäger C, Dumoulin A, Schaub S, et al. Cytomegalovirus-specific T-cell responses and viral replication in kidney transplant recipients. *Journal of translational medicine*. 2008;6:29.
114. Camargo LF, Esteves AB, Ulisses LR, Rivelli GG, Mazzali M. Urinary tract infection in renal transplant recipients: incidence, risk factors, and impact on graft function. *Transplantation proceedings*. 2014;46(6):1757-9.

115. Hollyer I, Ison MG. The challenge of urinary tract infections in renal transplant recipients. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society*. 2018;20(2):e12828.
116. Kotagiri P, Chembolli D, Ryan J, Hughes PD, Toussaint ND. Urinary Tract Infections in the First Year Post-Kidney Transplantation: Potential Benefits of Treating Asymptomatic Bacteriuria. *Transplantation proceedings*. 2017;49(9):2070-5.
117. Mian M, Natori Y, Ferreira V, Selzner N, Husain S, Singer L, et al. Evaluation of a Novel Global Immunity Assay to Predict Infection in Organ Transplant Recipients. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2018;66(9):1392-7.
118. Guo Y, Guo F, Wei C, Qiu J, Liu Y, Fang Y, et al. CTLA4 gene polymorphisms influence the incidence of infection after renal transplantation in Chinese recipients. *PLoS One*. 2013;8(8):e70824.
119. Dendle C, Gan PY, Polkinghorne KR, Ngui J, Stuart RL, Kanellis J, et al. Natural killer cell function predicts severe infection in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2019;19(1):166-77.
120. Muller LM, Gorter KJ, Hak E, Goudzwaard WL, Schellevis FG, Hoepelman AI, et al. Increased risk of common infections in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2005;41(3):281-8.
121. Lynch RJ, Ranney DN, Shijie C, Lee DS, Samala N, Englesbe MJ. Obesity, surgical site infection, and outcome following renal transplantation. *Annals of surgery*. 2009;250(6):1014-20.
122. Merli M, Giusto M, Gentili F, Novelli G, Ferretti G, Riggio O, et al. Nutritional status: its influence on the outcome of patients undergoing liver transplantation. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2010;30(2):208-14.
123. Cosio FG, Alamir A, Yim S, Pesavento TE, Falkenhain ME, Henry ML, et al. Patient survival after renal transplantation: I. The impact of dialysis pre-transplant. *Kidney international*. 1998;53(3):767-72.
124. Comoli P, Azzi A, Maccario R, Basso S, Botti G, Basile G, et al. Polyomavirus BK-specific immunity after kidney transplantation. *Transplantation*. 2004;78(8):1229-32.
125. Comoli P, Cioni M, Basso S, Gagliardone C, Potenza L, Verrina E, et al. Immunity to Polyomavirus BK Infection: Immune Monitoring to Regulate the Balance between Risk of BKV Nephropathy and Induction of Alloimmunity. *Clinical & developmental immunology*. 2013;2013:256923.
126. Schachtner T, Müller K, Stein M, Diezemann C, Sefrin A, Babel N, et al. BK virus-specific immunity kinetics: a predictor of recovery from polyomavirus BK-associated nephropathy. *Am J Transplant*. 2011;11(11):2443-52.
127. Süsal C, Wettstein D, Döhler B, Morath C, Ruhenstroth A, Scherer S, et al. Association of Kidney Graft Loss With De Novo Produced Donor-Specific and Non-Donor-Specific HLA Antibodies Detected by Single Antigen Testing. *Transplantation*. 2015;99(9):1976-80.
128. Focosi D, Antonelli G, Pistello M, Maggi F. Torquetenovirus: the human virome from bench to bedside. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2016;22(7):589-93.
129. Maggi F, Focosi D, Statzu M, Bianco G, Costa C, Macera L, et al. Early Post-Transplant Torquetenovirus Viremia Predicts Cytomegalovirus Reactivations In Solid Organ Transplant Recipients. *Scientific reports*. 2018;8(1):15490.
130. Schiemann M, Puchhammer-Stöckl E, Eskandary F, Kohlbeck P, Rasoul-Rockenschaub S, Heilos A, et al. Torque Teno Virus Load-Inverse Association With Antibody-Mediated Rejection After Kidney Transplantation. *Transplantation*. 2017;101(2):360-7.
131. Strassl R, Doberer K, Rasoul-Rockenschaub S, Herkner H, Görzer I, Kläger JP, et al. Torque Teno Virus for Risk Stratification of Acute Biopsy-Proven Alloreactivity in Kidney Transplant Recipients. *The Journal of infectious diseases*. 2019;219(12):1934-9.
132. Strassl R, Schiemann M, Doberer K, Görzer I, Puchhammer-Stöckl E, Eskandary F, et al. Quantification of Torque Teno Virus Viremia as a Prospective Biomarker for Infectious

Disease in Kidney Allograft Recipients. *The Journal of infectious diseases*. 2018;218(8):1191-9.

133. Harari A, Zimmerli SC, Pantaleo G. Cytomegalovirus (CMV)-specific cellular immune responses. *Human immunology*. 2004;65(5):500-6.

134. Egli A, Humar A, Kumar D. State-of-the-art monitoring of cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity after organ transplant: a primer for the clinician. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2012;55(12):1678-89.

135. Abate D, Saldan A, Fiscon M, Cofano S, Paciolla A, Furian L, et al. Evaluation of cytomegalovirus (CMV)-specific T cell immune reconstitution revealed that baseline antiviral immunity, prophylaxis, or preemptive therapy but not antithymocyte globulin treatment contribute to CMV-specific T cell reconstitution in kidney transplant recipients. *The Journal of infectious diseases*. 2010;202(4):585-94.

136. Cantisán S, Lara R, Montejo M, Redel J, Rodríguez-Benot A, Gutiérrez-Aroca J, et al. Pretransplant interferon- γ secretion by CMV-specific CD8⁺ T cells informs the risk of CMV replication after transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13(3):738-45.

137. Melendez D, Razonable RR. Immune-based monitoring for cytomegalovirus infection in solid organ transplantation: is it ready for clinical primetime? *Expert review of clinical immunology*. 2014;10(9):1213-27.

7 Danksagung

Am Ende meiner Dissertation möchte ich mich gerne bei allen bedanken, die mich auf dem Weg zum Abschluss meiner Arbeit begleitet und unterstützt haben.

Ein großer Dank geht vor allem an meine Doktormutter für die Möglichkeit der Promotion, die intensive Betreuung, konstruktive Kritik und Unterstützung. Durch ihr großes Engagement im Bereich des wissenschaftlichen Arbeitens, wurde mein Interesse dafür gefördert.

Danken möchte ich außerdem noch meiner Betreuerin, die mich vor allem im Labor immer unterstützt hat und mir bei jeglichen Fragen rund um die Uhr geholfen hat, diese zu klären und Lösungen zu finden.

Des Weiteren möchte ich allen Mitarbeitern der nephrologischen Ambulanz danken, die durch ihre Zusammenarbeit eine Erfassung der Studiendaten erst ermöglicht haben.

Besonders möchte ich auch meiner Familie, meinem Freund und meinen Freunden danken, die mich während des Studiums und der Dissertation auf vielfältige Weise unterstützten und mir stets zur Seite standen. Herzlichen Dank!

8 Tabellarischer Lebenslauf

Fabiana Fehrer

Geboren: 04.04.1995 in Mainz
Familienstand: ledig



Bildungsweg

04/2018 – 06/2024 Studium der Humanmedizin (Staatsexamen)
Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

10/2012 – 09/2015 Ausbildung Gesundheits- und Krankenpflegerin
DRK Krankenhaus Saarlouis

09/2003 – 06/2012 Allgemeine Hochschulreife
Albert-Schweitzer-Gymnasium Dillingen

Praktische Erfahrung

seit 07/2020 Doktorandin
Klinik für Allgemein-, Viszeral- und
Transplantationschirurgie der Universitätsmedizin
Mainz, AG Koch

05/2023 – 05/2024 Praktisches Jahr
Krankenhaus der Barmherzigen Brüder Trier

- Anästhesie

Klinikum Saarbrücken gGmbH

- Chirurgie: Orthopädie und Unfallchirurgie
- Innere Medizin: Onkologie, Kardiologie

05/2018 – 12/2023 Nebenjob als Gesundheits- und Krankenpflegerin
Konservative Notaufnahme
Universitätsmedizin Mainz

10/2016 – 03/2018 Gesundheits- und Krankenpflegerin
Interdisziplinäre Intensivstation
Caritas Klinikum Saarbrücken

10/2015 – 07/2016 Freiwilligendienst nach dem Programm
„weltwärts“
In Iringa, Tansania

- Arbeit als Gesundheits- und Krankenpflegerin in einem Krankenhaus auf unterschiedlichen Stationen
- Kinder- und Säuglingspflege im Waisenheim

Weitere Kenntnisse

Sprachen:

Deutsch – Muttersprache

Englisch – fließend in Wort und Schrift

Suaehli – fließend in Wort und Schrift

Französisch – DELF A2

Latein – Latinum

Software:

MS Powerpoint, MS Word – sehr gut

MS Excel – gut

Sonstige:

Führerscheinklasse B

Ehrenamtliche Tätigkeiten

- Aktives Mitglied bei „Hand in Hand e.V.“
- Studenteninitiative Aufklärung
Organspende Mainz