

DISSERTATION

Infektionen mit dem Hepatitis-E-Virus bei
immunkompromittierten Patientinnen und Patienten mit
hämatologischen Erkrankungen

Infections with the hepatitis E virus in immunocompromised
patients with hematologic diseases

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Ingwersen, Viktoria Viola

Erstbetreuung: PD Dr. med. Schwartz, Stefan

Datum der Promotion: 20.06.2025

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	i
Abbildungsverzeichnis	ii
Abkürzungsverzeichnis	iii
Zusammenfassung	1
Abstract	2
1 Einleitung	4
1.1 Infektionen mit dem Hepatitis-E-Virus: Eine Übersicht	4
1.2 Erregereigenschaften, Epidemiologie und Übertragungswege	4
1.3 Klinik, Diagnostik und Therapie der Infektion mit dem Hepatitis-E-Virus	5
1.4 Rolle der humoralen und zellulären Immunantwort bei der Abwehr von Infektionen mit dem Hepatitis-E-Virus und anderen viralen Infektionskrankheiten bei immunkompromittierten Patientinnen und Patienten	7
1.5 Zielsetzung dieser Arbeit	9
2 Methodik	10
2.1 Studienpopulation und Falldefinitionen	10
2.2 Datensammlung und Datenanalyse	11
2.3 Virologische und klinische Parameter	12
3 Ergebnisse	13
3.1 Klinische Charakteristika der Patientinnen und Patienten	13
3.2 Verlauf und Therapie der Infektion mit dem Hepatitis-E-Virus	15
3.3 Anzahl der CD4+ T-Zellzahlen bei hämatologischen Patientinnen und Patienten im Verlauf der Infektionen mit dem Hepatitis-E-Virus	17
4 Diskussion	21
4.1 Zusammenfassung der Hauptergebnisse	21

4.2. Vergleich mit Erkenntnissen aktueller Literatur	21
4.3 Stärken und Schwächen der Studie	25
4.4 Implikation für die Praxis und zukünftige Forschung	26
5 Schlussfolgerung.....	26
Literaturverzeichnis.....	28
Eidesstattliche Versicherung	35
Anteilerklärung an der erfolgten Publikation	36
Publikation.....	37
Lebenslauf.....	44
Publikationsliste	45
Danksagung	46

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Charakteristika von 22 immunkompromittierten Patientinnen und Patienten mit einer HEV-Infektion. Modifiziert nach Ingwersen et al, 2023 (38).	14
Tabelle 2: Verlauf der HEV-Infektionen bei 22 immunkompromittierten Patientinnen und Patienten, eigene Darstellung: Ingwersen.	16

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Klinischer Verlauf eines Patienten mit Mantelzelllymphom nach autoHSZT und HEV-Infektion, dessen CD4-Lymphopenie sich unter der Ribavirintherapie zurückbildete. Normwertbereich für ASAT <50 U/l. Modifiziert nach Ingwersen et al., 2023 (38).....	17
Abbildung 2: Klinischer Verlauf eines Patienten mit Compositelymphom nach autoHSZT mit HEV-Infektion, dessen CD4-Lymphopenie sich unter der Ribavirintherapie normalisierte. Normwertbereich für ASAT <50 U/l. Modifiziert nach Ingwersen et al., 2023 (38).....	18
Abbildung 3: Klinischer Verlauf Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie, Immunglobulinmangel, normalen CD4+ T-Zellzahlen und spontaner Ausheilung der HEV-Infektion. Normwertbereich für ASAT <50 U/l. Modifiziert nach Ingwersen et al., 2023 (38).	19
Abbildung 4: Verlauf der CD4+ T-Zellzahlen von immunkompromittierten Patientinnen und Patienten mit einer HEV-Infektion und SVR oder Rezidiv der Infektion nach VR. Modifiziert nach Ingwersen et al., 2023 (38).....	20

Abkürzungsverzeichnis

ALL	<i>Akute lymphatische Leukämie</i>
alloHSZT	<i>allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation</i>
AML	<i>Akute myeloische Leukämie</i>
autoHSZT	<i>autologe hämatopoetische Stammzelltransplantation</i>
B-CLL	<i>Chronische lymphatische Leukämie</i>
COVID-19	<i>Coronavirus disease 2019</i>
EASL	<i>European Association for the Study of the Liver</i>
HBV	<i>Hepatitis-B-Virus</i>
HCV	<i>Hepatitis-C-Virus</i>
HEV	<i>Hepatitis-E-Virus</i>
NET	<i>Neuroendokriner Tumor</i>
NHL	<i>Non-Hodgkin-Lymphom</i>
SARS-CoV-2	<i>Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2</i>
SVR	<i>Sustained virological response</i>
VR	<i>Virological response</i>

Zusammenfassung

Einleitung: HEV-Infektionen treten weltweit sehr häufig auf. Während akute Infektionen in Europa meist asymptomatisch verlaufen und spontan ausheilen, können chronische Verläufe, insbesondere bei immunkompromittierten Patientinnen und Patienten, zur Leberzirrhose und einem Leberversagen führen. Ribavirin ist die einzige für die Behandlung dieser Infektion wirksame Substanz, ist allerdings hierfür nicht zugelassen. Es gibt nur eine begrenzte Zahl an Berichten zu HEV-Infektionen bei immungeschwächten Patienten, mit Ausnahme von Patientinnen und Patienten nach Organtransplantation. Die Elemente der Immunantwort, deren Beeinträchtigung unter Immunsuppression chronische HEV-Infektionen begünstigt, sind bei hämatologischen Patientinnen und Patienten wenig erforscht. Ziele dieser Arbeit waren die systematische Erfassung von Krankheits- und Behandlungscharakteristika immunkompromittierter Patientinnen und Patienten mit hämatologischer Erkrankung und HEV-Infektion, sowie die Identifizierung von Faktoren mit Einfluss auf den Verlauf der Infektion und das Therapieansprechen.

Methodik: Hämatologische Patientinnen und Patienten mit nachgewiesener HEV-Infektion wurden über die Labordatenbank des Instituts für Virologie der Charité identifiziert. Klinische und therapeutische Merkmale wurden gesammelt und analysiert.

Ergebnisse: Insgesamt wurden 22 Patientinnen und Patienten identifiziert (Lymphom 12, akute Leukämie 7, kombinierter Immundefekt 2, solider Tumor 1). Bei 11 von 12 Patientinnen und Patienten ohne antivirale Therapie kam es zu einer spontanen Ausheilung der Infektion, darunter 3 bzw. 2 Patienten nach allogener bzw. autologer Stammzelltransplantation. Zehn Patientinnen und Patienten wurden mit Ribavirin behandelt; bei 6 dieser Patientinnen und Patienten führte dies zu einem anhaltenden virologischen Ansprechen (SVR). Drei Patientinnen und Patienten erlitten ein Rezidiv der Infektion nach Ribavirin. Es zeigte sich kein Ansprechen auf einen erneuten Therapieversuch mit Ribavirin und Peginterferon alfa bei einer Patientin. Bei 2 Patienten nach autologer Stammzelltransplantation zeigte sich unter erfolgreicher Therapie mit Ribavirin ein Anstieg der CD4+ T-Zellzahlen von $<100/\mu\text{l}$ in den Normbereich. Bei einem weiteren Patienten mit CLL und normwertigen CD4+ T-Zellen kam es, trotz eines ausgeprägten Antikörpermangels, zu einer spontanen Ausheilung der Infektion. Insgesamt zeigte sich ein Anstieg der CD4+ T-Zellen bei 5 Patientinnen und Patienten mit SVR.

Schlussfolgerung: CD4+ T-Zellen spielen mutmaßlich eine wesentliche Rolle bei der Elimination des Hepatitis-E-Virus. Eine Ribavirintherapie erscheint bei Patientinnen und Patienten mit HEV-Infektion, die initial keine CD4-Lymphopenie zeigen, nicht unmittelbar notwendig. Die frühzeitige Gabe von Ribavirin bei Patientinnen und Patienten mit CD4-Lymphopenie erscheint hingegen sinnvoll, um eine chronische HEV-Infektion zu vermeiden. Möglicherweise ist bei diesen Patienten ein Anstieg der Zahl an CD4+ T-Zellen prädiktiv für ein Ansprechen auf eine Therapie mit Ribavirin.

Abstract

Introduction: Infections with the Hepatitis E Virus (HEV) are very common and occur worldwide. In Europe, acute HEV infections are often asymptomatic and resolve spontaneously in healthy individuals. However, chronic infections may occur in immunocompromised individuals and could result in liver cirrhosis and liver failure in these patients. Ribavirin is the only effective medication for the treatment of infections with HEV, but this compound is not approved for this indication. Published reports about HEV infections in immunocompromised patients, other than solid organ transplant recipients, are scarce. There is still a limited understanding of the factors associated with immunosuppression in hematologic patients that have an impact on the course of chronic HEV infections. This study aims to assess clinical and treatment characteristics of HEV infections in these patients. Furthermore, potential risk factors associated with the outcomes of infections and treatment responses were compiled and analyzed.

Methods: Patients with hematologic diseases and HEV infection were identified from the laboratory database of the Institute of Virology of the Charité. Clinical and therapeutic features were retrospectively collected and analyzed.

Results: Overall, 22 patients were identified (lymphoma 12, acute leukemia 7, combined immunodeficiency 2, solid tumor 1). Eleven of 12 patients without antiviral therapy cleared the infection spontaneously. Among these, 3 patients, who had undergone an autologous stem cell transplantation, experienced a SVR despite not having received ribavirin. Ten patients were treated with ribavirin, which resulted in a SVR in 6 patients. Three patients experienced a relapse of the infection after the termination of ribavirin. One of these patients unsuccessfully received another course with ribavirin and peginterferon alfa. Parallel to a virological response under ribavirin therapy, 2 patients experienced an increase of CD4+ T cells from $<100/\mu\text{L}$ to normal levels. A single patient with CLL and

normal numbers of CD4+ T cells, but persistent hypogammaglobulinemia, cleared the infection spontaneously. Overall, an increase of CD4+ T cells was observed in 5 patients in parallel to a resolving HEV infection.

Conclusion: It appears likely that CD4+ T cells play a key role in the clearance of the hepatitis E virus. Early ribavirin therapy in hematologic patients with HEV infections and without CD4-lymphopenia, appears unnecessary. However, patients with CD4-lymphopenia might benefit from early ribavirin therapy, to prevent chronic infections with its devastating consequences. In these patients, an increase in the number of CD4+ T cells may be predictive of a response to ribavirin therapy.

1 Einleitung

1.1 Infektionen mit dem Hepatitis-E-Virus: Eine Übersicht

In den letzten Jahren hat sich das Wissen zu HEV-Infektionen stark erweitert. HEV-Infektionen treten nicht nur als akute Infektionserkrankung in Ländern mit mangelnden sanitären Bedingungen gehäuft auf (1). Seroprävalenzen bis 30% zeigen, dass die HEV-Infektion auch in europäischen Industrienationen eine häufige Infektionserkrankung darstellt (2). Während akute HEV-Infektionen in Europa vorwiegend durch den Genotyp 3 verursacht werden und bei Gesunden meist spontan und folgenlos ausheilen, können chronische HEV-Infektionen bei immunsupprimierten Patientinnen und Patienten auftreten. Bei diesen letztgenannten Patientinnen und Patienten können HEV-Infektionen zu schweren Verläufen mit bleibenden Leberschäden oder tödlichem Ausgang führen. Die Elemente der Immunantwort, welche die Viruselimination entscheidend fördern und deren Beeinträchtigung unter Immunsuppression chronische HEV-Infektionen begünstigen, sind bei hämatologischen Patientinnen und Patienten bislang unzureichend erforscht. Limitierte Therapieoptionen bei der Behandlung der HEV-Infektion stellen im Hinblick auf ein mögliches Therapieversagen eine große Herausforderung dar, insbesondere bei komplexen Therapieentscheidungen bei Patientinnen und Patienten mit hämatologischen Erkrankungen (1, 3).

1.2 Erregerereigenschaften, Epidemiologie und Übertragungswege

Das Hepatitis-E-Virus ist ein positiv-einzelsträngiges RNA-Virus und kommt in behüllter und unbehüllter Form vor. Es ist Teil der Familie der Hepeviridae und zählt zur Orthohepevirus-Spezies A, welche 8 Genotypen umfasst (4).

Die bisher bekannten Genotypen (Genotypen 1-8) unterscheiden sich in ihrem Vorkommen, Übertragungsweg und Pathogenität für den Menschen (5). Die Genotypen 1-4 und 7 sind Anthropozoonosen und demnach humanpathogen. Genotyp 1 und Genotyp 2 zeigen sich typischerweise bei akuten Infektionen beim Menschen in Entwicklungsländern, werden vor allem fäkal-oral über verunreinigtes Trinkwasser übertragen und Infektionen werden durch mangelnde sanitäre Bedingungen begünstigt (6). In industrialisierten, europäischen Ländern ist hauptsächlich der Genotyp 3 und in asiatischen Industrienationen der Genotyp 4 vertreten. Beide Genotypen sind meist lebensmittelbedingte Anthropozoonosen und können chronische Infektionen auslösen. Die Übertragung erfolgt typischerweise durch den Verzehr von kontaminiertem, unzureichend gegartem Fleisch von unter anderem Wildschweinen, Schweinen oder

Rehen. Beerenobst oder Gemüse kann ebenfalls eine Quelle für eine HEV-Infektion darstellen, z.B. durch Kontakt mit kontaminierten Wasser im Rahmen von Bewässerungen (1). Weitere, mögliche Übertragungsquellen sind Bluttransfusionen und Gewebespenden (7). Kürzlich wurde erstmals eine Infektion mit Genotyp 7 beim Menschen beschrieben, bei der Kamelmilch als mutmaßliche Quelle identifiziert wurde (8). Die HEV IgG-Seroprävalenz ist in Europa sehr heterogen (9). In bestimmten Regionen in Deutschland und Frankreich konnte eine IgG-Seroprävalenz von bis zu 30% festgestellt werden (2).

1.3 Klinik, Diagnostik und Therapie der Infektion mit dem Hepatitis-E-Virus

Das Wissen über die Häufigkeit, den Schweregrad und den Verlauf von HEV-Infektionen bei immunsupprimierten Patientinnen und Patienten, sowie Therapieempfehlungen, stützen sich vor allem auf Beobachtungen von Patientinnen und Patienten nach Organtransplantation. Bis heute liegen wenige Informationen zu Patientinnen und Patienten mit hämatologischen Erkrankungen vor.

Die akute HEV-Infektion durch Genotyp 3 verläuft bei gesunden Individuen in der Regel oligo- bis asymptomatisch und heilt spontan aus. Eine Gruppe mit relevantem Risiko für einen akuten, fulminanten Verlauf stellen Patientinnen und Patienten mit bereits bestehender Lebererkrankung dar. Übliche Symptome sind Übelkeit, Fieber, Appetitminderung, Abdominal- und Gelenkschmerz und Hautausschlag neben Erscheinungen, wie einer Dunkelfärbung des Urins, Entfärbung des Stuhls und Lebervergrößerung (10). Chronische HEV-Infektionen wurden bisher ausschließlich bei immunkompromittierten Patientinnen und Patienten beschrieben (11). 2008 wurden erstmals chronische HEV-Infektionen (Nachweis von HEV-RNA über mindestens 3 Monate) bei Patientinnen und Patienten nach Organtransplantation (Leber, Niere, Pankreas) beschrieben, später auch bei Patientinnen und Patienten unter immunmodulatorischer Therapie oder Chemotherapie aufgrund eines soliden Tumors, mit HIV-Infektion, rheumatologischer oder hämatologischer Grunderkrankung (1, 3, 12). Eine akute HEV-Infektion wurde in einer Studie bei 1-3% der Patientinnen und Patienten nach Organtransplantation beobachtet, wobei 60% der Fälle einen chronischen Verlauf entwickelten (13). Ähnliche Ergebnisse zeigte eine retrospektive, niederländische Studie an Patientinnen und Patienten nach alloHSZT (14). Hier konnten in einer Kohorte von 328 Patientinnen und Patienten nach alloHSZT 8 (2,4%) Infizierte, von denen 5 (>50%)

einen chronischen Verlauf (HEV-RNA im Plasma von mindestens 6 Monaten) entwickelten, identifiziert werden.

Die EASL empfiehlt zur zuverlässigen Diagnostik der HEV-Infektion die Kombination von Serologie und PCR, da immunkompromittierte Patientinnen und Patienten eine negative Serologie bei chronischer Infektion aufweisen können (4). Bei Patientinnen und Patienten nach Organtransplantation fanden sich oft nur geringe Erhöhungen der Transaminasen, was nicht selten als medikamentös-toxischer Leberschaden missinterpretiert wurde (11). In der vorgenannten Studie an Patientinnen und Patienten nach alloHSZT wurde bei 8 Patientinnen und Patienten die Erhöhung der Leberenzyme zunächst im Rahmen einer ‚Graft-versus-Host Disease‘ oder als arzneimittelinduzierte Leberschädigung interpretiert, was die Schwierigkeit der Diagnose der HEV-Infektion bei Patientinnen und Patienten nach alloHSZT verdeutlicht (14).

Eine Reduktion der Immunsuppression als erster Therapieschritt bei Patientinnen und Patienten nach Organtransplantation (Leber, Niere, Pankreas) führte bei 30% der Fälle zu einer spontanen Ausheilung der HEV-Infektion (13). In einer Fallserie mit 14 hämatologischen Patientinnen und Patienten kam es bei 12 zu einer spontanen Ausheilung der Infektion ohne Maßnahmen wie eine Reduktion der Immunsuppression (15). Die Reduktion der Immunsuppression als Therapieschritt bei hämatologischen Patientinnen und Patienten ist kaum erprobt. In einer retrospektiven, multizentrischen, europäischen Studie an 50 Patientinnen und Patienten mit hämatologischer Grunderkrankung wurde bei 7 nach Stammzelltransplantation eine Reduktion der Immunsuppression vorgenommen, wobei nachfolgend 2 dieser Patientinnen und Patienten verstarben. In dieser Studie wurden 6 mit HEV assoziierte Todesfälle registriert. Bei 6 weiteren Patientinnen und Patienten entwickelte sich eine Leberzirrhose, was die schweren Konsequenzen einer unkontrollierten chronischen HEV-Infektion bei hämatologischen Patientinnen und Patienten verdeutlicht (16).

Sollte es zu keiner spontanen Ausheilung kommen, empfiehlt die EASL eine 3-monatige Behandlung mit dem Medikament Ribavirin. Ribavirin wurde zur Behandlung von HEV-Infektionen insbesondere bei Patientinnen und Patienten nach Organtransplantation erfolgreich eingesetzt, wobei es für diese Indikation nicht offiziell zugelassen ist (13, 17). Das Medikament Ribavirin hat sich in kleinen Fallstudien ebenfalls bei der Behandlung von HEV-Infektionen bei hämatologischen Patientinnen und Patienten als effektiv erwiesen. Die vorgenannten Studien berichten bei 19 von 24 Patientinnen und Patienten

von einer erfolgreichen Behandlung mit Ribavirin mit Erreichen eines SVR nach Ribaviringabe bei 9 von 12 behandelten Patientinnen und Patienten (15, 16).

Im Fall eines Therapieversagens empfiehlt die EASL eine erneute, verlängerte Ribavirintherapie über 6 Monate. Bei 6 von 10 Patientinnen und Patienten nach Organtransplantation mit einem Rezidiv der Infektion resultierte dies in einem anhaltenden virologischen Ansprechen (4, 17). Im Zuge der Behandlung mit Ribavirin kann es zu Nebenwirkungen, wie einer hämolytischen Anämie oder Beeinträchtigung der Nierenfunktion, kommen, die eine Dosisreduktion oder vorzeitige Beendigung der Therapie erfordern können (18-20). Für weiterhin persistierende Infektionen gibt es keine erprobten Behandlungsempfehlungen, abgesehen von einem Therapieversuch mit Peginterferon alfa, was bisher nur bei einer kleinen Anzahl von Patientinnen und Patienten erfolgreich eingesetzt wurde (21).

Insgesamt basieren die bis heute verfügbaren Erkenntnisse zur HEV-Infektion bei hämatologischen Patientinnen und Patienten auf retrospektiven Untersuchungen an kleinen Fallzahlen. Es ist weitgehend unklar, welche Faktoren mit einem gesteigerten Risiko für eine chronische HEV-Infektion assoziiert sind und wann eine Indikation zur Behandlung besteht. Die optimale Dosis und Behandlungsdauer lassen sich auf Basis der aktuell verfügbaren Erkenntnisse für diese Gruppe von Patientinnen und Patienten nicht abschließend definieren. Es gibt bis heute keine erprobten Behandlungsalternativen, falls eine Ribavirintherapie nicht erfolgreich ist.

1.4 Rolle der humoralen und zellulären Immunantwort bei der Abwehr von Infektionen mit dem Hepatitis-E-Virus und anderen viralen Infektionskrankheiten bei immunkompromittierten Patientinnen und Patienten

Immunkompromittierte Patientinnen und Patienten, einschließlich solcher mit hämatologischen Erkrankungen, haben im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung ein erhöhtes Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko durch virale Infektionen. Die relativen Beiträge der verschiedenen Teile des adaptiven Immunsystems zur Viruskontrolle und die Rolle von T-Zell- und B-Zell-gerichteten Medikamenten in diesem Zusammenhang werden in der aktuellen Literatur zu HEV-Infektionen, aber auch zu HBV-, HCV- und SARS-CoV-2-Infektionen diskutiert.

In diversen Fallstudien konnte eine entscheidende Rolle der B-Zellen für die zelluläre Immunfunktion bei der Elimination viraler Infektionen nachgewiesen werden. In einer monozentrischen Fallserie mit 35 hämatologischen Patientinnen und Patienten konnten

gegen das Oberflächenmolekül CD20 gerichtete Therapien als signifikanter Risikofaktor für chronische HEV-Infektionen identifiziert werden (22). Bei nur einem Patienten einer Fallserie von 5 Patientinnen und Patienten mit chronischer HEV-Infektion nach Therapie mit Rituximab kam es nach einer Behandlung mit Ribavirin zu einem SVR (23). Alle Patientinnen und Patienten dieser Fallserie zeigten eine Hypogammaglobulinämie. Diese Befunde erinnern an die bekannten signifikant erhöhten Reaktivierungsraten des Hepatitis-B-Virus nach Rituximab-Exposition (24), sowie an die Ergebnisse zahlreicher Studien, welche eine verminderte Wirksamkeit von COVID-19-Impfstoffen bei hämatologischen Patientinnen und Patienten durch verminderte oder fehlende Bildung von Sars-Cov-2-spezifischen neutralisierenden Antikörpern feststellen, während die Anwendung B-Zell-gerichteter Therapien (BTK-Inhibitoren, anti-CD20-Antikörper) mit einer besonders starken Einschränkung der humoralen Immunantwort auf die Impfung und einem höheren Risiko für COVID-19-assoziierte Komplikationen einhergingen (25-28). Insbesondere CD8⁺ T-Zellen spielen eine wichtige Rolle bei der Unterstützung der immunologischen Kontrolle von HBV- und HCV-Infektionen (29, 30). In einer Studie mit CD8⁺ T-Zell-depletierten, HEV-infizierten Makaken war die Ausheilung der Infektion mit einer robusten CD4⁺ T-Zell- und Antikörperantwort verbunden (31). Neben erhöhten neutralisierenden Antikörpertitern zeigte sich insbesondere eine hohe CD4⁺ T-Zell-Antwort in einer kürzlich publizierten Untersuchung an immunkompetenten Individuen mit akuter HEV-Infektion (32). Fallstudien an immunsupprimierten Patientinnen und Patienten mit HEV-Infektion legen ebenfalls nahe, dass eine adäquate T-Zellfunktion für die Viruskontrolle entscheidend ist. Bei chronisch HEV-infizierten Patientinnen und Patienten wurden verminderte Lymphozytenzahlen und abgeschwächte CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellantworten beobachtet, die sich nach Abklingen der Virusinfektion wieder normalisierten (33). In Fallserien von Patientinnen und Patienten nach Organtransplantation konnte Tacrolimus, ein hochwirksames T-Zell-Immunsuppressivum, als Risikofaktor für eine chronische HEV-Infektion identifiziert werden und bei 8 Patientinnen und Patienten mit chronischer Infektion wurde eine Lymphopenie mit niedrigen CD4⁺-Zellen festgestellt (3, 13). Eine CD4⁺-Zellzahl von weniger als 200/ μ l war ein Hauptrisikofaktor für HIV-Patientinnen und Patienten, eine chronische HEV-Infektion zu entwickeln (34).

Die beschriebenen Beobachtungen beschränken sich auf eine kleine Anzahl immunsupprimierter Patientinnen und Patienten. Ein besseres Verständnis der Auswirkungen von immunsuppressiven Grunderkrankungen und Medikamenten auf die

verschiedenen Kompartimente des Immunsystems sind essenziell für die Verbesserung der Behandlung von immunsupprimierten Patientinnen und Patienten mit HEV-Infektion.

1.5 Zielsetzung dieser Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, anhand von Behandlungs- und Verlaufsdaten von immunkompromittierten Patientinnen und Patienten mit HEV-Infektion weitere Erkenntnisse zu gewinnen, um zukünftig eine gezieltere und effektivere Gestaltung von Behandlungen zu ermöglichen. Insbesondere sollten Faktoren mit Einfluss auf den Krankheitsverlauf und das Therapieansprechen bei hämatologischen Patientinnen und Patienten identifiziert werden, um Therapieentscheidungen bei der Behandlung der HEV-Infektionen zukünftig zu verbessern.

2 Methodik

2.1 Studienpopulation und Falldefinitionen

Für diese Fallserie wurden Patientinnen und Patienten mit einer HEV-Infektion und hämatologischer Grunderkrankung aus der Labordatenbank des Instituts für Virologie der Charité identifiziert. Das Haupteinschlusskriterium in diese Studie war das Vorliegen einer HEV-Infektion bei gleichzeitiger oder vorangegangener Immunsuppression. Insbesondere wurden Patientinnen und Patienten ausgewählt, bei denen eine Immunsuppression aufgrund einer hämatologischen Erkrankung oder erfolgter Chemotherapie und/oder Stammzelltransplantation bestand. Eine HEV-Infektion galt für diese Studie als gesichert, wenn ein positiver serologischer Befund (Nachweis von Hepatitis-E-Virus IgM-Antikörpern im Serum) vorlag und/ oder Kopien von HEV-RNA in einer RT-PCR detektiert wurden. Patientinnen und Patienten, die lediglich Hinweise auf eine zurückliegende ausgeheilte HEV-Infektion zeigten (ausschließlich positive Hepatitis-E-Virus IgG-Antikörper), wurden nicht in diese Fallserie eingeschlossen.

Ein anhaltendes virologisches Ansprechen (SVR) wurde bei einer Patientin oder einem Patienten angenommen, bei denen keine HEV-RNA im Plasma über mindestens 3 Monate nach Spontanausheilung der Infektion oder erfolgter Behandlung mit Ribavirin nachgewiesen werden konnte, ein virologisches Ansprechen (VR) als das einmalige/wiederholte Vorliegen negativer PCR-Befunde über einen Zeitraum von weniger als 3 Monaten, mit Normalisierung der Leberwerte. Lag keine Normalisierung der Leberwerte vor, so mussten diese auf eine andere, plausible Ursache zurückführbar gewesen sein. Ein Rezidiv der Infektion nach VR wurde definiert als erneuter Nachweis von HEV-RNA nach einmaliger/wiederholter negativer PCR-Untersuchung in einem Zeitraum unter 3 Monaten mit oder ohne Ribavirintherapie und zumindest vorübergehender Normalisierung der Leberwerte. Die nachweisbare Virämie von bis zu 3 Monaten wurde als akute Infektion eingeordnet. Eine HEV-Infektion, die länger als 3 Monate andauerte, wurde als chronische Infektion definiert.

Diese Studie wurde von der Ethikkommission der Charité (Ethikkommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin) begutachtet und genehmigt (EA4/016/19). Von der Ethikkommission wurde der Verzicht auf die Einwilligung der Patientinnen und Patienten akzeptiert, da es sich um eine retrospektive Analyse anonymisierter Daten der Patientinnen und Patienten handelt.

2.2 Datensammlung und Datenanalyse

Ausgewählte klinische und therapeutische Merkmale von immunkompromittierten Patientinnen und Patienten mit nachgewiesener HEV-Infektion wurden für diese Arbeit zusammengefasst und retrospektiv analysiert.

Erfasst wurden die Grunderkrankungen, insbesondere die hämatologischen Erkrankungen, und die diesbezüglichen Therapien. Im Falle einer erfolgten Chemotherapie und/oder Stammzelltransplantation wurde das Datum der Behandlung festgehalten, um die zeitliche Differenz zwischen erfolgter Stammzelltransplantation und/oder Chemotherapie und der HEV-Infektion zu bestimmen. Die Zeitpunkte des ersten und letzten Nachweises der aktiven HEV-Infektion (Datum des ersten positiven/negativen PCR-Tests) wurden registriert, um die Dauer der Infektion zu berechnen. Im Falle fehlender PCR-Ergebnisse wurde die Dauer der Leberwerterhöhung zur Abschätzung der Infektionsdauer herangezogen, soweit andere Ursachen für eine Leberwerterhöhung ausgeschlossen werden konnten. Lagen sequenzielle PCR-Ergebnisse vor, so wurden diese ebenfalls dokumentiert, um diese in einen zeitlichen Zusammenhang mit weiteren klinischen Parametern zu setzen. Im Falle einer Behandlung mit Ribavirin oder einer anderen Therapiemethode, wurden die Behandlungsdauer und verabreichte tägliche Dosis des Medikaments erfasst. Gründe für eine mögliche Therapieunterbrechung oder Reduktion der Dosis wurden ebenfalls verzeichnet. Laborparameter, wie die Leberfunktionsparameter (GPT, GOT, alkalische Phosphatase, Bilirubin gesamt), das IgG und die Zahl zirkulierender CD4+ T-Zellen, die in einem zeitlichen Zusammenhang zu der HEV-Infektion standen, wurden ebenfalls dokumentiert und grafisch visualisiert. Für den Vergleich der Dynamik der CD4+ T-Zell-Werte wurden Patientinnen und Patienten ausgewählt, bei denen eine Quantifizierung von Lymphozyten-Untergruppen zu zwei bestimmten Zeitpunkten vorlag. CD4+ T-Zellen mussten einerseits zu einem Zeitpunkt nahe dem ersten Virusnachweis bzw. maximal 3 Monate im Vorhinein und zu einem Zeitpunkt nahe des erreichten SVR vorliegen. Bei den Patientinnen und Patienten, die ein Rezidiv der Infektion nach einem VR hatten, wurde der zweite CD4+ T-Zell-Wert in einem Zeitintervall von maximal 3 Monaten nach erster negativer PCR-Untersuchung ausgewählt. Ein medianer Quotient der CD4+ T-Zellzahlen (Verlaufswert/Initialwert) wurde zum Vergleich der beiden Gruppen verwendet. Im Falle des Versterbens einer Patientin oder eines Patienten wurden Datum und Ursache festgehalten.

Die Datensammlung für diese Arbeit wurde im Programm Microsoft Excel vorgenommen. Die Darstellung der gesammelten Daten in tabellarischer oder graphischer Form erfolgte mit Programmen wie Microsoft Office Word oder PRISM GraphPad (GraphPad Software Inc., San Diego, USA). Für den statistischen Vergleich von kontinuierlichen Variablen wurde der Mann-Whitney-Test verwendet. Ab einem p-Wert von $\leq 0,05$ wurden in dieser Arbeit Unterschiede als statistisch signifikant bewertet. Statistische Berechnungen wurden mittels PRISM GraphPad (GraphPad Software Inc., San Diego, USA) durchgeführt.

2.3 Virologische und klinische Parameter

Der Nachweis von IgM- und IgG-Antikörpern erfolgte mittels Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Bei positivem Erstbefund wurde ein Immunoblot zur Bestätigung der Spezifität durchgeführt (recomWell und recomBlot, Microgen GmbH, Neuried, Deutschland). Für den Nachweis der HEV-RNA wurde eine „one-step“ real time RT-PCR aus EDTA-Plasma oder Serum durchgeführt (MP96 DNA und Viral NA SV Kit und Instrument, LightCycler 480 II; Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland). Das Target der RT-PCR war die virale ORF3-Region (35). Die Nachweisgrenze der RT-PCR (95% Nachweisrate) betrug 250 Kopien/ml (entspricht ca. 250 IU/ml). Um ein Vorhandensein von Hemmfaktoren auszuschließen, wurden ko-amplifizierende Nukleinsäuresequenzen als Kontrollen eingesetzt. Die Lymphozytendifferenzierung und Lymphozytenquantifizierung erfolgte unter der Verwendung eines automatisierten Blutzell-Analysegerätes (XN-2000, Sysmex, Norderstedt, Deutschland) und kommerziell erhältlichen monoklonalen Antikörpern (Cyto-Stat 2-color, Beckman Coulter, Krefeld, Deutschland) mittels Durchflusszytometrie (Navios EX system, Beckman Coulter, Krefeld, Deutschland). Die Untersuchungen und Messungen unterlagen externen laborübergreifenden Qualitätskontrollen (Referenzinstitut für Bioanalytik, Bonn, Deutschland).

3 Ergebnisse

3.1 Klinische Charakteristika der Patientinnen und Patienten

Insgesamt wurden 22 immunkompromittierte Patientinnen und Patienten mit einer HEV-Infektion identifiziert (Tabelle 1). Die HEV-Infektionen wurden zwischen März 2015 und November 2021 diagnostiziert. Bei einem einzelnen Patienten, dessen früher Verlauf bereits publiziert wurde, wurde die Infektion im Jahr 2007 diagnostiziert (36). Bei den insgesamt 15 Patienten und 7 Patientinnen lag das mediane Lebensalter zum Zeitpunkt der HEV-Infektion bei 59 Jahren. Die HEV-Infektion wurde durch den Nachweis von HEV-RNA diagnostiziert, mit Ausnahme von 2 Patienten, bei denen virusspezifische IgM- und IgG-Antikörper feststellbar waren und andere Ursachen einer Hepatitis ausgeschlossen wurden. Bei 20 der 22 Patienten lag eine maligne hämatologische Erkrankung (Lymphom 13, akute Leukämie 7) vor, welche bei 9 Patienten eine Stammzelltransplantation erforderte. Ein Patient hatte mehrere zugrundeliegende Erkrankungen, darunter ein kombiniertes Immundefizienzsyndrom in Verbindung mit einer heterozygoten KAT2A-Mutation. Eine weitere Patientin hatte ein kombiniertes Immundefizienzsyndrom aufgrund einer heterozygoten IKBKB-Mutation (37) und ein weiterer Patient einen soliden Tumor (Tabelle 1).

Tabelle 1: Charakteristika von 22 immunkompromittierten Patientinnen und Patienten mit einer HEV-Infektion. Modifiziert nach Ingwersen et al, 2023 (38).

Nr.	Geschlecht	Alter, Jahre	Grunderkrankung	Therapie	Dauer Ribavirintherapie, Monate	Tägliche Ribavirindosis, mg	Infektionsdauer	Virologisches Ansprechen	Todesursache	CD4+ T-Zellen [µl] ¹ Median (Min.-Max.), Anzahl der Messungen	Max. IgG-level ¹ , g/L
1	w	47	B-CLL	Keine	-	-	0,3	SVR	-	(1169), 1	9,93
2	m	84	B-CLL	Idelalisib ²	-	-	1,8	SVR	-	877 (525-980), 11	1,58
3	w	64	NHL ³	Chemotherapie/ Brentuximab	-	-	9,0	SVR	-	(660), 1	30,49
4	w	74	AML	Chemotherapie	-	-	9,5	SVR	Infektion (nicht HEV)	-	-
5	m	56	AML	alloHSZT	-	-	2,2	SVR	-	(580), 1	6,96
6	m	64	AML	alloHSZT	-	-	0,8	SVR	-	-	15,43
7	w	54	AML	alloHSZT	-	-	1,6	SVR	-	(150, 90), 2	2,47
8	m	77	Hodgkin-Lymphom	Chemotherapie	-	-	1	SVR	-	(370, 449), 2	-
9	w	54	Multiples Myelon	Carfilzomib, Lenalidomid, Dexamethason	-	-	3,2	SVR	-	(120), 1	2,93
10	m	48	Tonsillenkarzinom	Chemotherapie	-	-	Unbekannt ⁴	VR	Infektion (nicht HEV)	-	-
11	m	54	AML	autoHSZT	-	-	1,2	VR	Infektion (nicht HEV)	-	-
12 ⁵	m	31	ALL	alloHSZT	-	-	25,6	Ohne Spontanheilung	Infektion (nicht HEV)	-	7,33
13	m	74	MCL	autoHSZT	3	800	11,2	SVR	Infektion (nicht HEV)	149 (51-400), 15	5,45
14	m	51	Composite-Lymphom	autoHSZT	3	800	2,9	SVR	-	220 (80-340), 8	6,39
15	m	18	ALL	Chemotherapie	3	800	1,9	SVR	-	-	8,87
16	m	67	B-CLL	Rituximab/ Bendamustine	3	1200 ⁶	3,0	SVR	-	130 (110-291), 4	11,94
17	m	59	Hodgkin-Lymphom	Brentuximab/ Chemotherapie	1	600	2,1	SVR	-	-	18,73
18	w	61	B-CLL, Vulvakarzinom	Ibrutinib, Immunglobulinsubstitution	2,9	2000 ⁷	2,8	SVR	-	(170, 720) 2	5,26
19	m	63	NHL ⁸	autoHSZT	7	1000	2,1	SVR	Lymphom	-	-
20	m	65	NHL ⁹	autoHSZT	3	1200	27,8	Rezidiv nach VR	Leberversagen	200 (140-250), 5	20,79
21	w	48	Kombinierter Immundefekt	Immunglobulinsubstitution	3,6 ¹⁰	1000	53,8	Rezidiv nach VR	Leberversagen	180 (90-380), 22	7,55 ¹¹
22	m	59	Kombinierter Immundefekt, NHL ¹² , NET, Magenkarzinom	Chemotherapie, Immunglobulinsubstitution	10,8	800 ¹³	12,7	Rezidiv nach VR	-	160 (60-190), 9	11,67

Die in der Tabelle verwendeten Abkürzungen sind dem Abkürzungsverzeichnis zu entnehmen.

Daten von bis zu 3 Monaten vor der Diagnose einer HEV-Infektion oder dem Beginn der Ribavirin-Behandlung wurden berücksichtigt. ²Die Behandlung mit Idelalisib wurde bei Diagnose der HEV-Infektion abgebrochen. ³ Angioimmunoblastisches T-Zell Lymphom. ⁴ Fehlende Follow-up-Daten. ⁵ Der frühe Infektionsverlauf dieses Patienten wurde 2007 publiziert (26). Der Beobachtungszeitraum wurde bis Tag 732 nach Stammzelltransplantation erweitert, wobei wiederholt vorübergehend HEV-RNA im Plasma und Liquor auffiel. ⁶ Die anfängliche Tagesdosis (1200 mg) wurde nach 6 Wochen wegen Neutropenie pausiert und mit einer Tagesdosis von 400 mg fortgesetzt. ⁷ Eine anfängliche Tagesdosis von 2000 mg über 8 Wochen wurde im Verlauf auf eine Tagesdosis von 1000 mg reduziert. ⁸ Follikuläres Lymphom und T-Zell Non-Hodgkin Lymphom. ⁹ Follikuläres Lymphom und diffus großzelliges B-Zell Lymphom 12 Jahre nach Jahren Hodgkin-Lymphom. ¹⁰ Nach 3 Monaten Ribavirintherapie und einem Rezidiv wurden zwei Wiederholungsbehandlungen für weitere 6 Monate durchgeführt (eine zusammen mit Peginterferon alfa). ¹¹ Talspiegel 3 Monate vor erster Immunglobulinsubstitution. ¹² Diffus großzelliges B-Zell Lymphom. ¹³ Fortlaufende Behandlung ≥8 Monate mit vorübergehender Dosisreduktion auf 400 mg täglich für 2 Monate.

3.2 Verlauf und Therapie der Infektion mit dem Hepatitis-E-Virus

Bei 11 von 12 Patientinnen und Patienten, die keine antivirale Therapie erhielten, kam es zu einer spontanen Ausheilung der Infektion (Infektionsdauer: 0,3 bis 9,5 Monate, Median 2 Monate). Bei 9 dieser Patientinnen und Patienten, darunter 3 mit akuter myeloischer Leukämie und alloHSZT, konnte ein SVR bestätigt werden, bei 2 weiteren ein VR (Übersicht in Tabelle 2). Bei dem verbleibenden Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie nach alloHSZT ohne Ribavirintherapie (Patient 12, Tabelle 1), kam es nicht zu einer spontanen Ausheilung der Infektion. Sein früherer Infektionsverlauf wurde bereits publiziert (36). Im weiteren Verlauf traten wiederholt, wochenlange virämische Episoden auf. Die HEV-Infektion ereignete sich bei diesem Patienten vor der Stammzelltransplantation, wohingegen die HEV-Infektionen bei den anderen 3 Patientinnen und Patienten mit alloHSZT erst über 6 Monate nach Transplantation auftraten.

Zehn Patientinnen und Patienten wurden mit Ribavirin behandelt (400-2000 mg/Tag, für 1 bis 7 Monate). Insgesamt 7 der 10 behandelten Patientinnen und Patienten erreichten einen SVR. Bei einem Patienten mit Non-Hodgkin-Lymphom (Patient 19, Tabelle 1) konnte nur ein VR bestätigt werden, da der Patient durch die Progression der Lymphomerkkrankung vor Erreichen eines SVR verstarb. Trotz einer Therapiedauer von >3 Monaten (Ribavirindosis 800 mg/Tag) kam es bei 3 Patientinnen und Patienten (20, 21, 22, Tabelle 1) nach initialem Ansprechen auf eine Therapie mit Ribavirin zu einem Rezidiv der Infektion mit erneut nachweisbarer, zirkulierender HEV-RNA. Bei einem dieser Patienten (Patient 22, Tabelle 1), wurde nach 8 Monaten eine Dosisreduktion vorgenommen, um mögliche Medikamenteninteraktionen während der Chemotherapie zu vermeiden. Bei Patient 20, dessen gesamte Infektionszeit nahezu 28 Monaten andauerte, war ein weiterer Therapieversuch nicht möglich, da der Patient aufgrund einer nicht-viralen Blutstrominfektion und Leberversagen verstarb. In der Autopsie wurden eine Leberzirrhose und Ösophagusvarizen festgestellt. Patientin 21 erhielt nach Versagen einer Ribavirin-Monotherapie eine weitere Behandlung in Kombination mit Peginterferon alfa über 6 Monate. Hierunter entwickelte die Patientin eine Panzytopenie, sodass die Dosis der Medikamente reduziert und schließlich ausgesetzt wurden und mehrfach Blutprodukte transfundiert werden mussten. Nach 4 Jahren unkontrollierbarer HEV-Infektion verstarb diese Patientin aufgrund eines Leberversagens.

Tabelle 2: Verlauf der HEV-Infektionen bei 22 immunkompromittierten Patientinnen und Patienten, eigene Darstellung: Ingwersen.

Gesamt, N	22
Keine Ribavirin-Therapie, N	12
Infektionsdauer (Monate), Median (Min. – Max.)	1.8 (0.3-25.6) ¹
SVR nach Spontanausheilung, N	9
AML; alloHSZT/ nur Chemotherapie	3/1
B-CLL; keine Therapie/Idelalisib ²	1/1
Hodgkin Lymphom; Chemotherapie	1
NHL ³ ; Chemotherapie, Brentuximab	1
Multiples Myelom; Carfilzomib, Lenalidomid, Dexamethason	1
VR nach Spontanausheilung, N	2
AML; autoHSZT	1
Tonsillenkarzinom; Chemotherapie	1
Ohne Spontanausheilung, N	1
ALL; alloHSZT ⁴	1
Ribavirin-Therapie⁵, N	10
Infektionsdauer (Monate), Median (Spanne)	3.0 (1.9-53.8)
SVR nach Ribavirintherapie, N	6
NHL ⁶ ; autoHSZT	2
ALL; Chemotherapie	1
B-CLL; Rituximab, Bendamustin	1
B-CLL, Vulvakarzinom; Ibrutinib, Ig Substitution	1
Hodgkin Lymphom; Brentuximab, Chemotherapie	1
VR nach Ribavirintherapie, N	1
NHL ⁷ ; autoHSZT	1
Rezidiv nach VR, N	3
NHL ⁸ ; autoHSZT	1
Kombinierter Immundefekt; Ig-Substitution	1
Kombinierter Immundefekt, NHL ⁹ , NET, Magenkarzinom; Chemotherapie, Ig-Substitution	1

Die in der Tabelle verwendeten Abkürzungen sind dem Abkürzungsverzeichnis zu entnehmen.

¹Infektionsdauer eines Patienten unbekannt. ²Die Behandlung mit Idelalisib wurde bei Diagnose der HEV-Infektion abgebrochen. ³Angioimmunoblastisches T-Zell Lymphom ⁴Der frühe Infektionsverlauf dieses Patienten wurde 2007 publiziert (36). Der Beobachtungszeitraum wurde bis Tag 732 nach Stammzelltransplantation erweitert, wobei wiederholt vorübergehend HEV-RNA im Plasma und Liquor auffiel. ⁵Ribavirin wurde für 1 bis 7 Monate verabreicht. ⁶Composite-Lymphom 1, Mantelzelllymphom 1. ⁷Follikuläres Lymphom und T-Zell Non-Hodgkin Lymphom. ⁸Follikuläres Lymphom und diffus großzelliges B-Zell Lymphom 12 Jahre nach Jahren Hodgkin-Lymphom. ⁹Diffus großzelliges B-Zell Lymphom.

3.3 Anzahl der CD4+ T-Zellzahlen bei hämatologischen Patientinnen und Patienten im Verlauf der Infektionen mit dem Hepatitis-E-Virus

Von 3 Patienten lagen Ergebnisse sequenzieller quantitativer HEV-PCR-Tests und Messungen der CD4+ T-Zellen im zeitlichen Bezug zur HEV-Infektion vor (Patient 2, 13, 14; Tabelle 1).

Bei einem 74-jähriger Patienten (Patient 13, Tabelle 1) wurde am Tag 584 nach autoHSZT eine HEV-Infektion nachgewiesen. Bei diesem Patienten, der bereits zuvor mit erhöhten Leberwerten und niedrigen CD4+ T-Zellzahlen auffiel, wurde trotz wiederholter serologischer Tests keine HEV-Infektion diagnostiziert. Eine chronische Infektion wurde nachträglich durch die Untersuchung mittels PCR einer Rückstellprobe von Tag 295 nach autoHSZT gesichert. Parallel zur fallenden Viruslast unter 3-monatiger Ribavirintherapie kam es zu einem nachhaltigen Anstieg der CD4+ T-Zellen von $<100/\mu\text{l}$ auf durchgehend $>200/\mu\text{l}$ und Normalisierung der Leberwerte (Abbildung 1). Im weiteren Verlauf ergab sich bei diesem Patienten kein Hinweis auf eine erneute Infektion oder Reaktivierung. Spezifische IgG-Antikörper waren intermittierend ab Tag 575 nachweisbar, wohingegen IgM-Antikörper erst ab Tag 575 nachweisbar wurden.

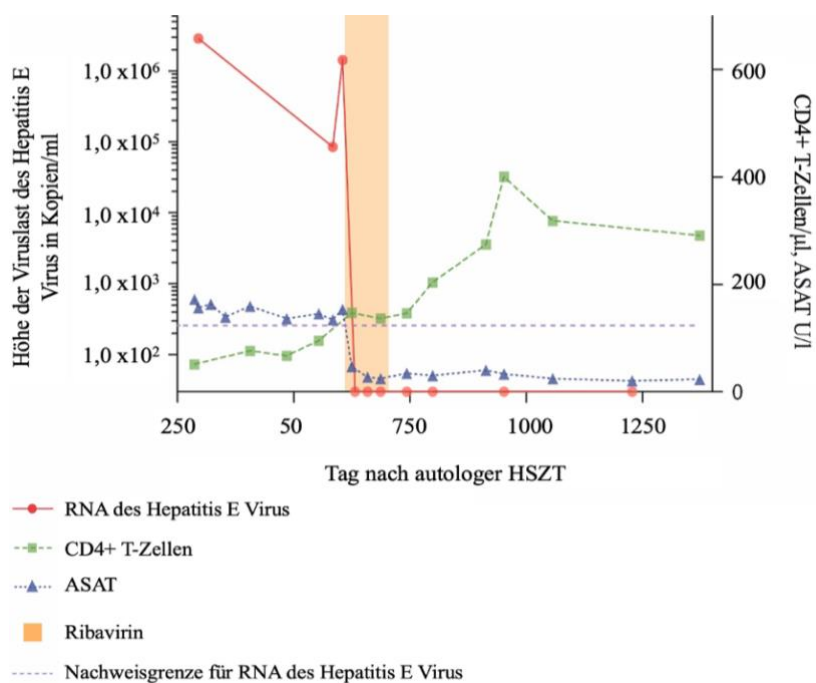


Abbildung 1: Klinischer Verlauf eines Patienten mit Mantelzelllymphom nach autoHSZT und HEV-Infektion, dessen CD4-Lymphopenie sich unter der Ribavirintherapie zurückbildete. Normwertbereich für ASAT <50 U/l. Modifiziert nach Ingwersen et al., 2023 (38).

Ansteigende Zahlen der CD4+ T-Lymphozyten parallel zu einer Therapie mit Ribavirin und SVR zeigten sich auch bei einem 51-jährigen Patienten mit Composite-Lymphom (Patient 14, Tabelle 1). Die HEV-Infektion wurde bei diesem Patienten 2,5 Monate nach autoHSZT diagnostiziert, nachdem erhöhte Leberwerte aufgefallen waren. Unter Ribavirintherapie über 3 Monate erreichte der Patient nachhaltig einen Anstieg der CD4+ Werte von 80/µl auf >200/µl ab Tag 209, unmittelbar nachdem die Viruslast unter die Nachweisgrenze gefallen war (Abbildung 2). Die Infektionsdauer betrug 2,9 Monate. Im weiteren Verlauf ergaben sich auch bei diesem Patienten keine Hinweise auf eine Reinfektion oder Reaktivierung der HEV-Infektion.

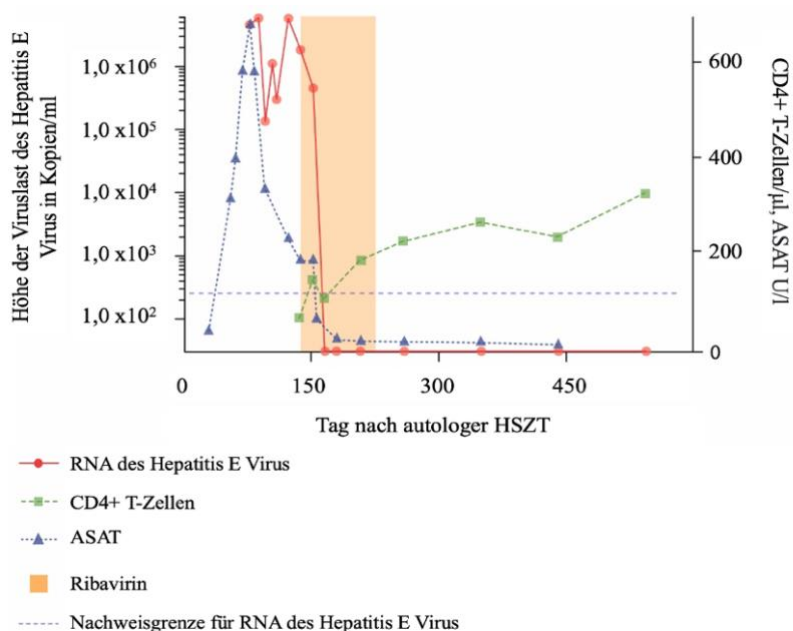


Abbildung 2: Klinischer Verlauf eines Patienten mit Compositelymphom nach autoHSZT mit HEV-Infektion, dessen CD4-Lymphopenie sich unter der Ribavirintherapie normalisierte. Normwertbereich für ASAT <50 U/l. Modifiziert nach Ingwersen et al, 2023 (38).

Bei einem 84-jährigen Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie unter Idelalisibtherapie (Patient 2, Tabelle 1) lagen zum Zeitpunkt der Diagnose der HEV-Infektion die CD4+ Werte im Normbereich (Abbildung 3). Aufgrund eines Antikörpermangelsyndroms mit rezidivierenden Atemwegsinfektionen und allergischen Reaktionen auf Immunglobulinpräparate war bei diesem Patienten eine Immunglobulinsubstitution nicht möglich und seine IgG-Spiegel lagen durchgehend <1,6

g/l. Bei diesem Patienten kam es zu einer spontanen Ausheilung der Infektion nach 57 Tagen, Normalisierung der Leberwerte und einem Anstieg der CD4+ Werte bis auf 958/ μ l.

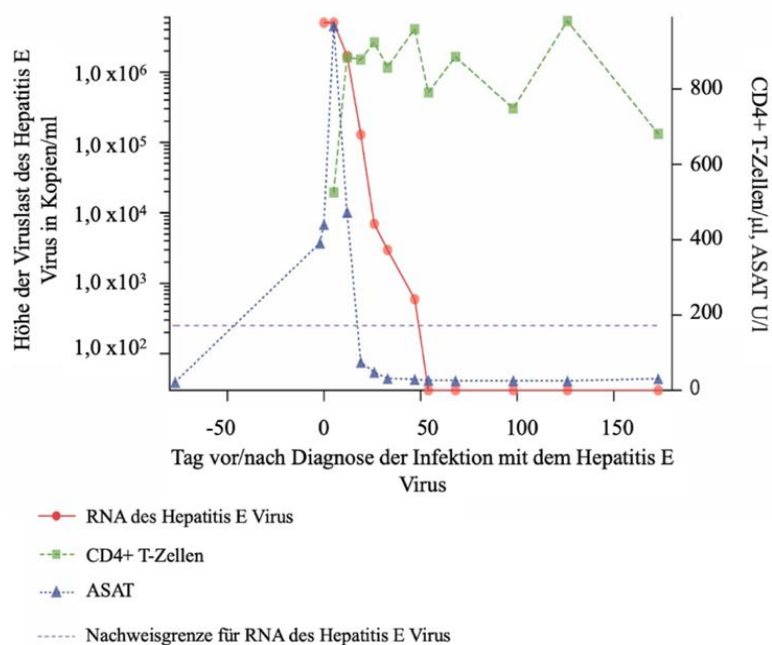


Abbildung 3: Klinischer Verlauf Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie, Immunglobulinmangel, normalen CD4+ T-Zellzahlen und spontaner Ausheilung der HEV-Infektion. Normwertbereich für ASAT <50 U/l. Modifiziert nach Ingwersen et al., 2023 (38).

Eine Dynamik der CD4+ T-Zellzahlen war bei 9 Patientinnen und Patienten auswertbar (Abbildung 4), von denen 6 einen SVR erreichten (Patientinnen und Patienten 2, 7, 8, 13, 14, 18) und 3 ein Rezidiv der Infektion nach vorheriger antiviraler Therapie erlitten (Patientinnen und Patienten 20, 21, 22). Es kam zu einem Anstieg der CD4+ T-Zellzahlen bei 5 von 6 Patientinnen und Patienten mit SVR, während Patienten mit Rezidiv nach VR einen Abfall der CD4+ T-Zellzahlen (2 Patienten) und nur ein Patient eine leichte Zunahme zeigten. Der mediane Quotient der CD4+ T-Zellzahlen (Follow-up/vorher) betrug 2,8 bei den Patientinnen und Patienten mit SVR und 1,0 bei einem Rezidiv der Infektion nach VR. Dieser Unterschied war nicht statistisch signifikant ($p=0,17$).

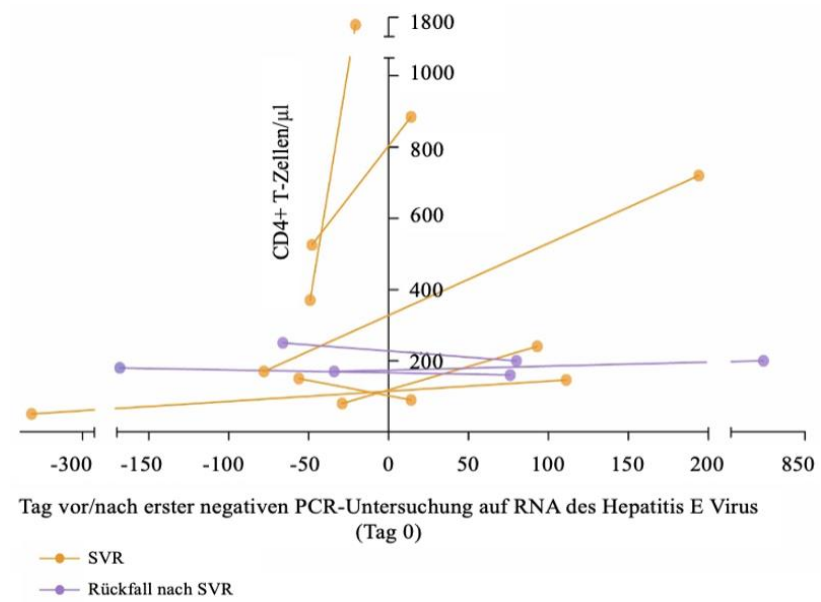


Abbildung 4 : Verlauf der CD4+ T-Zellzahlen von immunkompromittierten Patientinnen und Patienten mit einer HEV-Infektion und SVR oder Rezidiv der Infektion nach VR. Modifiziert nach Ingwersen et al., 2023 (38).

4 Diskussion

4.1 Zusammenfassung der Hauptergebnisse

Durch das systematische Screening der Labordatenbank des Instituts für Virologie der Charité konnten 22 immunkompromittierte Patientinnen und Patienten mit HEV-Infektion identifiziert werden. Von einer HEV-Infektion betroffen waren Patientinnen und Patienten mit Lymphom, Leukämie, solidem Tumor und kombinierten Immundefektsyndrom, die unterschiedliche Chemotherapieregime oder eine Immunchemotherapie durchlaufen hatten und von denen 9 eine Stammzelltransplantation erhalten hatten. 10 Patientinnen und Patienten wurden mit Ribavirin behandelt, was bei 6 zu einem SVR, bei einem zu einem VR und bei 3 zu einem Rezidiv der Infektion nach VR führte. Bei 2 Patienten mit autoHSZT kam es unter der Ribavirintherapie zu einem bemerkenswert deutlichen Anstieg der CD4+ T-Zellzahlen von $<100/\mu\text{l}$ in den Normbereich. Bei einem Patienten mit normwertigen CD4+ T-Zellen kam es zu einer spontanen Ausheilung der Infektion, trotz eines ausgeprägten Antikörpermangels. Es zeigte sich bei 5 Patientinnen und Patienten mit SVR ein Anstieg der CD4+ T-Zellen.

4.2. Vergleich mit Erkenntnissen aktueller Literatur

Die geringe Anzahl an identifizierten Patientinnen und Patienten aus der großen Labordatenbank legt nahe, dass HEV-Infektionen bei hämatologischen Patientinnen und Patienten selten sind, diese Patientinnen und Patienten dennoch ein hohes Risiko haben, einen chronischen Verlauf zu entwickeln. Eine chronische Infektion konnte bei fast der Hälfte der Patientinnen und Patienten dokumentiert werden. Diese Beobachtung stimmt mit Ergebnissen publizierter Fallserien überein, in denen chronische HEV-Infektionen 35-63% der Fälle ausmachten (14, 16, 22, 39). Für diese Arbeit wurden Patientinnen und Patienten nicht prospektiv und systematisch auf das Hepatitis-E-Virus getestet, sodass asymptomatische Infektionen möglicherweise nicht erfasst wurden.

Die vorliegende Arbeit verdeutlicht, dass die Diagnostik der HEV-Infektion bei hämatologischen Patientinnen und Patienten eine Herausforderung darstellt. Ein beispielhafter Fall in dieser Fallserie (Patient 13, Tabelle 1) zeigt eine um fast 9 Monate verzögerte Diagnosestellung. Trotz hoher Viruslast und pathologisch erhöhter Leberwerte konnten am Tag 287 nach autoHSZT keine Hepatitis E IgM- und IgG-Antikörper nachgewiesen werden. Ähnliche Ergebnisse erbrachte eine kürzlich veröffentlichte Studie zu Patientinnen und Patienten nach alloHSZT (39). Von 8 Patientinnen und Patienten, bei denen HEV-RNA nachgewiesen wurde, konnten bei 5

keine IgM- und IgG-Antikörper gegen das Hepatitis-E-Virus nachgewiesen werden. Diese Beobachtungen verdeutlichen, dass eine zuverlässige Diagnose einer HEV-Infektion, insbesondere bei hämatologischen Patientinnen und Patienten, einen konkreten Verdacht und spezifische Tests mittels Nukleinsäureamplifikationstechnik erfordert (4). In dieser Studie erreichten 3 Patientinnen und Patienten nach alloHSZT ohne Therapie mit Ribavirin einen SVR, was mit einem langen Zeitintervall zwischen der Transplantation bzw. einer weitgehend abgeschlossenen Immunrekonstitution und dem Beginn der Infektion zusammenhängen könnte. Die Reduktion einer immunsuppressiven Therapie stellt gemäß der EASL-Guideline von 2018 einen möglichen ersten therapeutischen Schritt zur Behandlung der HEV-Infektion dar, was in dieser Studie in keinem der Fälle erfolgte (4). In einer Arbeit zu 16 Patientinnen und Patienten nach Organtransplantation und chronischer Infektion war ein niedriger Tacrolimus-Talspiegel mit einer höheren Wahrscheinlichkeit einer spontanen Ausheilung assoziiert (40). Die Reduktion der Immunsuppression war in einer Studie bei 3 von 5 Patientinnen und Patienten mit chronischer Infektion und alloHSZT mit einer erfolgreichen Elimination des Hepatitis-E-Virus assoziiert (14), wohingegen in einer anderen Studie 2 Patientinnen und Patienten nach alloHSZT nach dieser Maßnahme verstarben (16). Die Reduktion der Immunsuppression bei hämatologischen Patientinnen und Patienten zur Behandlung der HEV-Infektion erfordert demnach ein sorgfältiges Abwägen zwischen möglichen Risiken und potenziellem Nutzen bei individuellen Patienten.

Das gute Ansprechen auf eine Ribavirintherapie der 7 von 10 behandelten Patientinnen und Patienten dieser Fallserie bestätigt publizierte Daten zur Effektivität der Therapie mit Ribavirin zur Behandlung der HEV-Infektion. In einer Studie führte die 3-monatige Therapie mit Ribavirin bei 9 von 12 behandelten Patientinnen und Patienten zu einem SVR und konnte damit die Entstehung chronischer Infektionen verhindern (15, 22). Therapieentscheidungen wurden in der vorliegenden Studie individuell getroffen. Ein Patient dieser Fallserie erreichte einen SVR nach 1-monatiger Ribavirintherapie, wohingegen weitere Patientinnen und Patienten mindestens 3 Monate behandelt wurden. Ebenso variierten die verabreichten Dosen von Ribavirin deutlich (600 - 2000 mg täglich). Ob der Patient mit akuter lymphatischer Leukämie aus dieser Fallserie (Patient 15, Tabelle 1), der über Jahre hinweg wiederholt virämische Episoden zeigte, von einer Behandlung profitiert hätte, bleibt offen. Die heterogenen Verläufe und Therapieentscheidungen verdeutlichen den Bedarf einer verbesserten

Risikoabschätzung sowie differenzierten Behandlungsrichtlinien für diese Gruppe von Patientinnen und Patienten.

In einer Studie, in der die Wirksamkeit und Sicherheit von Ribavirin bei Patientinnen und Patienten nach Organtransplantation untersucht wurde, trat eine Anämie in 29% der Fälle auf, was eine Gabe von Erythropoetin bei 54% oder Bluttransfusionen bei 12% der Patientinnen und Patienten erforderte (17). Auch bei einer Patientin und einem Patienten in der vorliegenden Fallserie kam es zu Nebenwirkungen, wie Panzytopenie oder Neutropenie, was eine Reduktion bzw. ein Aussetzen der Ribavirindosis und die Transfusion von Blutprodukten zur Folge hatte. Trotz einer Therapiedauer von mindestens drei Monaten kam es bei drei Patientinnen und Patienten dieser Studie zu einem Therapieversagen. Besonders bedauerlich ist, dass eine Patientin, bei der nach gescheiterter Ribavirin-Monotherapie ein Therapieversuch mit Ribavirin und Peginterferon alfa ebenfalls nur zu einem vorübergehenden Ansprechen führte, und diese Patientin sowie ein weiterer Patient infolge der chronischen und unkontrollierbaren HEV-Infektion an Leberversagen verstarben. Eine weitere Studie, die retrospektiv, multizentrisch 50 Patientinnen und Patienten mit maligner hämatologischer Erkrankung und HEV-Infektion untersuchte, dokumentierte sechs Hepatitis-E-assoziierte Todesfälle und bei sechs weiteren Patientinnen und Patienten wurde eine Leberzirrhose festgestellt (16). Ebenso konnte bei einem Patienten mit Lymphom in dieser Fallserie (Patient 20, Tabelle 1) eine Leberzirrhose festgestellt werden. Diese Fälle verdeutlichen, dass sowohl Nebenwirkungen von Ribavirin, als auch die limitierten Therapieoptionen bei der Behandlung, im Hinblick auf die schwerwiegenden Konsequenzen einer unkontrollierbaren HEV-Infektion, eine große Herausforderung darstellen, insbesondere bei komplexen Therapieentscheidungen bei Patientinnen und Patienten mit hämatologischen Erkrankungen.

Gesichert gilt, dass für die adäquate Elimination von HBV-Infektionen sowie zu einem gewissen Grad auch bei HCV-Infektionen eine adäquate B-Zell Funktion, sowie das Vorliegen von neutralisierten, virusspezifischen Antikörpern eine ausschlaggebende Rolle spielt. Der Einsatz von gegen B-Zellen gerichtete Therapien konnte mit der Reaktivierung von HBV-Infektionen, sowie hoch dosierte Steroidtherapien mit Reaktivierungen und Flares von Infektionen mit dem Hepatitis C Virus assoziiert werden (41, 42). Hämatologische Patientinnen und Patienten, die B-Zell-gerichtete Therapien erhielten, zeigten eine starke Einschränkung der humoralen Immunantwort auf die COVID-19-Impfung und ein höheres Risiko für COVID-19-assoziierte Komplikationen

(27, 28). Es ist nicht geklärt, inwieweit eine adäquate B-Zell-Funktion eine ausschlaggebende Rolle bei der Kontrolle von HEV-Infektionen spielt.

In einer Fallserie konnten gegen das Oberflächenmolekül CD20 gerichtete Therapien als Risikofaktor für chronische Infektionen identifiziert werden. Allerdings hatten in dieser Arbeit nur 13 hämatologische Patientinnen und Patienten gegen das Oberflächenmolekül CD20 gerichtete Therapien erhalten und es konnten keine weiteren Informationen über einen Zusammenhang zwischen Lymphopenie und der Entwicklung einer chronischen HEV-Infektion gewonnen werden, da diese Untersuchungen nicht vorlagen (22). In nur einem Fall in einer Fallserie von 5 Patientinnen und Patienten mit chronischer HEV-Infektion nach Rituximabtherapie kam es nach einer Behandlung mit Ribavirin zu einem SVR (23). Alle Patientinnen und Patienten dieser Fallserie zeigten eine Hypogammaglobulinämie. Eine Behandlung mit Rituximab, könnte demnach die Entstehung einer chronischen Infektion und schwer-behandelbare Verläufe einer HEV-Infektion begünstigen.

Der spontane SVR bei einem Patienten mit B-CLL aus der vorliegenden Fallserie (Patient 2, Tabelle 1), mit ausgeprägter Hypogammaglobulinämie, aber normwertigen CD4+ T-Zellzahlen, stellt infrage, ob eine adäquate B-Zell Antwort ausschlaggebend für die erfolgreiche Viruselimination ist. Die Ergebnisse der vorliegenden Fallserie, sowie bereits publizierter Arbeiten legen nahe, dass insbesondere eine adäquate T-Zell-Antwort eine wesentliche Rolle bei der Kontrolle von HEV-Infektionen spielt. Eine Reduktion der vorwiegend gegen T-Zellen gerichtete Immunsuppression bei Patientinnen und Patienten mit einer HEV-Infektion nach Organtransplantation, führte in 1/3 der Fälle zu einer Ausheilung (20). In einer anderen Fallserie zeigten 8 Patientinnen und Patienten mit chronischer HEV-Infektion nach Organtransplantation eine Lymphopenie, sowie niedrige CD4+ T-Zellen (3). Es zeigte sich zudem, dass ex vivo gemessene für das Hepatitis-E-Virus spezifische T-Zell- und Interferon-Gamma-Antworten nach Kontakt mit spezifischen Peptiden des Hepatitis-E-Virus bei Patientinnen und Patienten nach Organtransplantation und chronischer Infektion niedriger waren im Vergleich zu Patientinnen und Patienten mit Organtransplantation und/oder ausgeheilte Infektion (33). Ähnliche Untersuchungen bei hämatologischen Patientinnen und Patienten wurden bisher nicht publiziert. In der vorgenannten Fallserie, in der nur 1 von 5 Patientinnen und Patienten mit chronischer HEV-Infektion und Rituximabtherapie auf eine Therapie mit Ribavirin mit einem SVR ansprach, fielen neben einer Hypogammaglobulinämie bei allen Patientinnen und Patienten eine CD4-Lymphopenie ($<200/\mu\text{l}$) auf (23). Auch in Studien

an Patientinnen und Patienten mit rheumatoider Arthritis konnte gezeigt werden, dass eine Behandlung mit Rituximab mit einer signifikanten Abnahme der CD4+ T-Zellen einherging (43, 44). In einer Studie an Patientinnen und Patienten mit Non-Hodgkin-Lymphom, die mit Rituximab behandelt wurden, konnte eine dosisabhängige Inaktivierung von T-Zellen beobachtet werden. Dieser Effekt war auch in vitro nachweisbar, selbst wenn keine B-Zellen vorhanden waren. Dies deutet darauf hin, dass Rituximab eine direkte Wirkung auf T-Zellen haben könnte, wobei es bisher keine überzeugenden Hinweise auf den möglichen Mechanismus gibt (45). Letzteres könnte im Falle einer Behandlung mit Rituximab eine entscheidende Ursache für die Entstehung chronischer und schwer behandelbarer HEV-Infektionen sein. Die Regeneration der CD4-Lymphopenie bei zwei Patienten dieser Fallserie parallel zur Viruselimination unter Ribavirintherapie, sowie der Anstieg der CD4+ T-Zellen bei dem Großteil der Patientinnen und Patienten parallel zum Erreichen eines SVR ist eindrücklich und erinnert an einen vergleichbaren Fall eines Patienten mit Mantelzelllymphom und chronischer COVID-19-Infektion unter Rituximab-Therapie mit ausreichenden virusspezifischen IgG-Antikörpern, aber ausgeprägter Panzytopenie. Nach Verabreichung des COVID-19-Impfstoffs kam es zu einem Anstieg der CD4+ und CD8+ T-Zellen parallel zur Ausheilung der Infektion (46). Der weitere Befund, dass bei hospitalisierten hämatologischen Patienten, die unter anderem mit gegen das Oberflächenmolekül CD20 gerichteten Therapien behandelt wurden, bei 77% SARS-CoV-2-spezifische T-Zellreaktionen nachweisbar waren, während die B-Zellzahl keinen Einfluss auf die Überlebensrate zeigte (47), legt nahe, dass eine ausreichende Schutzwirkung durch SARS-CoV-2-spezifische T-Zellen bei hämatologischen Patienten erzielt werden kann.

Zusammenfassend spiegeln die Ergebnisse dieser Fallserie die Beteiligung der CD4+ T-Zellen am Prozess der Viruselimination wider und lassen vermuten, dass chronische HEV-Infektionen möglicherweise die spezifische T-Zell Antworten supprimieren, die für die Elimination des Virus entscheidend sind.

4.3 Stärken und Schwächen der Studie

Die vorliegende Studie erweitert das begrenzte Wissen über HEV-Infektionen bei immunkompromittierten Patientinnen und Patienten, speziell bei solchen mit hämatologischen Grunderkrankungen. Die Arbeit bestätigt die beschriebenen Beobachtungen, dass HEV-Infektionen bei hämatologischen Patientinnen und Patienten hochrelevant sind und individuell sehr variabel verlaufen können. Es konnte bestätigt

werden, dass die Verabreichung des Medikaments Ribavirin eine effektive Therapiemöglichkeit der HEV-Infektion ist, wobei eine Behandlung nicht in jedem Fall notwendig ist und das Auftreten von Nebenwirkungen die Behandlung beeinträchtigen kann. Die Beobachtungen zur Regeneration der CD4+ T-Zellzahlen im zeitlichen Zusammenhang mit der Ausheilung von HEV-Infektionen, wie in dieser Arbeit beschrieben, waren bisher nicht bekannt. Spezifische T-Zell-Antworten wurden im Rahmen dieser Arbeit jedoch nicht untersucht. Weitere Studien sind notwendig, um die zugrunde liegenden Mechanismen einer möglichen T-Zell-Erschöpfung bei Patientinnen und Patienten mit chronischer HEV-Infektion, insbesondere bei solchen mit Therapieversagen zu verstehen.

Bei dieser Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Studie mit einer begrenzten Anzahl an Patientinnen und Patienten. Es war daher nicht möglich, die exakte Häufigkeit von HEV-Infektionen zu bestimmen. Die Diagnostik und Therapie der HEV-Infektion erfolgten nicht standardisiert, da bisher keine Leitlinien für diese Patientengruppe vorliegen. Es konnte zudem nicht ermittelt werden, welche Übertragungswege bei den Patientinnen und Patienten vorlagen. Zukünftige Studien sollten möglichst prospektiv und auf Basis standardisierter diagnostischer und therapeutischer Vorgehensweisen durchgeführt werden.

4.4 Implikation für die Praxis und zukünftige Forschung

Die Zahl an CD4+ T-Zellen wurde als möglicher Einflussfaktor auf den Verlauf von HEV-Infektionen identifiziert, sodass diese als Marker für Therapieentscheidungen oder als Reaktionsparameter einer antiviralen Therapie verwendet werden könnte. Dies sollte allerdings an einer größeren Anzahl von Patientinnen und Patienten geprüft werden.

5 Schlussfolgerung

HEV-Infektionen verlaufen bei hämatologischen Patientinnen und Patienten individuell sehr variabel. Das Medikament Ribavirin stellt die einzige, effektive Therapiemöglichkeit dar, wobei eine Behandlung nicht in jedem Fall notwendig ist. CD4+ T-Zellen spielen mutmaßlich eine wesentliche Rolle bei der Elimination des Hepatitis-E-Virus. Bei hämatologischen Patientinnen und Patienten mit HEV-Infektion und CD4-Lymphopenie scheint eine frühzeitige Ribavirintherapie sinnvoll, um chronische HEV-Infektionen und irreversible Leberschäden zu verhindern, wohingegen bei Patientinnen und Patienten mit normwertigen CD4+ T-Zellen ein abwartendes Vorgehen unter regelmäßiger Laborkontrolle gerechtfertigt scheint. Möglicherweise kann bei diesen Patientinnen und

Patienten ein Anstieg der Zahl an CD4+ T-Zellen prädiktiv für ein Ansprechen auf eine Therapie mit Ribavirin gewertet werden.

Literaturverzeichnis

1. O'Gorman J, Burke A, O'Flaherty N. Hepatitis E virus - key points for the clinical haematologist. *Br J Haematol.* 2018;181(5):579-589.
2. Hartl J, Otto B, Madden RG, Webb G, Woolson KL, Kriston L, Vettorazzi E, Lohse AW, Dalton HR, Pischke S. Hepatitis E Seroprevalence in Europe: A Meta-Analysis. *Viruses.* 2016;8(8):211.
3. Kamar N, Selves J, Mansuy JM, Ouezzani L, Peron JM, Guitard J, Cointault O, Esposito L, Abravanel F, Danjoux M, Durand D, Vinel JP, Izopet J, Rostaing L. Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *N Engl J Med.* 2008;358(8):811-817.
4. EASL. EASL Clinical Practice Guidelines on hepatitis E virus infection. *J Hepatol.* 2018;68(6):1256-1271.
5. Aslan AT, Balaban HY. Hepatitis E virus: Epidemiology, diagnosis, clinical manifestations, and treatment. *World J Gastroenterol.* 2020;26(37):5543-5560.
6. Nimgaonkar I, Ding Q, Schwartz RE, Ploss A. Hepatitis E virus: advances and challenges. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018;15(2):96-110.
7. Hewitt PE, Ijaz S, Brailsford SR, Brett R, Dicks S, Haywood B, Kennedy IT, Kitchen A, Patel P, Poh J, Russell K, Tettmar KI, Tossell J, Ushiro-Lumb I, Tedder RS. Hepatitis E virus in blood components: a prevalence and transmission study in southeast England. *Lancet.* 2014;384(9956):1766-1773.
8. Lee GH, Tan BH, Teo EC, Lim SG, Dan YY, Wee A, Aw PP, Zhu Y, Hibberd ML, Tan CK, Purdy MA, Teo CG. Chronic Infection With Camelid Hepatitis E Virus in a Liver Transplant Recipient Who Regularly Consumes Camel Meat and Milk. *Gastroenterology.* 2016;150(2):355-357 e353.
9. Horn J, Hoodgarzadeh M, Klett-Tammen CJ, Mikolajczyk RT, Krause G, Ott JJ. Epidemiologic estimates of hepatitis E virus infection in European countries. *J Infect.* 2018;77(6):544-552.

10.von Wulffen M, Westholter D, Lutgehetmann M, Pischke S. Hepatitis E: Still Waters Run Deep. *J Clin Transl Hepatol*. 2018;6(1):40-47.

11.Narayanan S, Abutaleb A, Sherman KE, Kottlilil S. Clinical features and determinants of chronicity in hepatitis e virus infection. *J Viral Hepat*. 2019;26(4):414-421.

12.Pischke S, Peron JM, von Wulffen M, von Felden J, Honer Zu Siederdisen C, Fournier S, Lutgehetmann M, Iking-Konert C, Bettinger D, Par G, Thimme R, Cantagrel A, Lohse AW, Wedemeyer H, de Man R, Mallet V. Chronic Hepatitis E in Rheumatology and Internal Medicine Patients: A Retrospective Multicenter European Cohort Study. *Viruses*. 2019;11(2):186.

13.Kamar N, Garrouste C, Haagsma EB, Garrigue V, Pischke S, Chauvet C, Dumortier J, Cannesson A, Cassuto-Viguiet E, Thervet E, Conti F, Lebray P, Dalton HR, Santella R, Kanaan N, Essig M, Mousson C, Radenne S, Roque-Afonso AM, Izopet J, Rostaing L. Factors associated with chronic hepatitis in patients with hepatitis E virus infection who have received solid organ transplants. *Gastroenterology*. 2011;140(5):1481-1489.

14.Versluis J, Pas SD, Agteresch HJ, de Man RA, Maaskant J, Schipper ME, Osterhaus AD, Cornelissen JJ, van der Eijk AA. Hepatitis E virus: an underestimated opportunistic pathogen in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2013;122(6):1079-1086.

15.Tavitian S, Peron JM, Huguet F, Kamar N, Abravanel F, Beyne-Rauzy O, Oberic L, Faguer S, Alric L, Roussel M, Gaudin C, Ysebaert L, Huynh A, Recher C. Ribavirin for Chronic Hepatitis Prevention among Patients with Hematologic Malignancies. *Emerg Infect Dis*. 2015;21(8):1466-1469.

16.von Felden J, Alric L, Pischke S, Aitken C, Schlabe S, Spengler U, Giordani MT, Schnitzler P, Bettinger D, Thimme R, Xhaard A, Binder M, Ayuk F, Lohse AW, Cornelissen JJ, de Man RA, Mallet V. The burden of hepatitis E among patients with haematological malignancies: A retrospective European cohort study. *J Hepatol*. 2019;71(3):465-472.

- 17.Kamar N, Izopet J, Tripon S, Bismuth M, Hillaire S, Dumortier J, Radenne S, Coilly A, Garrigue V, D'Alteroche L, Buchler M, Couzi L, Lebray P, Dharancy S, Minello A, Hourmant M, Roque-Afonso AM, Abravanel F, Pol S, Rostaing L, Mallet V. Ribavirin for chronic hepatitis E virus infection in transplant recipients. *N Engl J Med.* 2014;370(12):1111-1120.
- 18.Markakis GE, Papatheodoridis GV, Cholongitas E. Epidemiology and treatment of hepatitis E in the liver transplantation setting: A literature review. *J Viral Hepat.* 2022;29(9):698-718.
- 19.Mikulska M, Penack O, Wendel L, Knelange N, Cornelissen JJ, Blijlevens N, Passweg J, Kroger N, Bruns A, Koenecke C, Bierings M, Pinana JL, Labussiere-Wallet H, Ghesquieres H, Diaz MA, Sampol A, Averbuch D, de la Camara R, Styczynski J. HEV infection in stem cell transplant recipients-retrospective study of EBMT Infectious Diseases Working Party. *Bone Marrow Transplant.* 2022;57(2):167-175.
- 20.Ma Z, de Man RA, Kamar N, Pan Q. Chronic hepatitis E: Advancing research and patient care. *J Hepatol.* 2022;77(4):1109-1123.
- 21.Kamar N, Rostaing L, Abravanel F, Garrouste C, Esposito L, Cardeau-Desangles I, Mansuy JM, Selves J, Peron JM, Otal P, Muscari F, Izopet J. Pegylated interferon-alpha for treating chronic hepatitis E virus infection after liver transplantation. *Clin Infect Dis.* 2010;50(5):e30-e33.
- 22.Ghandili S, Lindhauer C, Pischke S, Zur Wiesch JS, Von Kroge PH, Polywka S, Bokemeyer C, Fiedler W, Kroger N, Ayuk F, Adjalle R, Modemann F. Clinical features of hepatitis E infections in patients with hematologic disorders. *Haematologica.* 2022;107(12):2870-2883.
- 23.Schulz M, Biedermann P, Bock CT, Hofmann J, Choi M, Tacke F, Hanitsch LG, Mueller T. Rituximab-Containing Treatment Regimens May Imply a Long-Term Risk for Difficult-To-Treat Chronic Hepatitis E. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(1):341.
- 24.Mallet V, van Bommel F, Doerig C, Pischke S, Hermine O, Locasciulli A, Cordonnier C, Berg T, Moradpour D, Wedemeyer H, Ljungman P, Ecil. Management of viral hepatitis

in patients with haematological malignancy and in patients undergoing haemopoietic stem cell transplantation: recommendations of the 5th European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL-5). *Lancet Infect Dis.* 2016;16(5):606-617.

25.Harris CE, Vijenthira A, Ong SY, Baden LR, Hicks LK, Baird JH. COVID-19 and Other Viral Infections in Patients With Hematologic Malignancies. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2023;43:e390778.

26.Maneikis K, Sablauskas K, Ringeleviciute U, Vaitekenaite V, Cekauskienė R, Kryzauskaite L, Naumovas D, Banyš V, Peceliunas V, Beinortas T, Griskevicius L. Immunogenicity of the BNT162b2 COVID-19 mRNA vaccine and early clinical outcomes in patients with haematological malignancies in Lithuania: a national prospective cohort study. *Lancet Haematol.* 2021;8(8):e583-e592.

27.Nishikubo M, Shimomura Y, Maruoka H, Nasu S, Nishioka T, Sakizono K, Mitsuyuki S, Kubo T, Okada N, Nakagawa D, Kamijo K, Imoto H, Yamamoto R, Nagai Y, Hiramoto N, Yoshioka S, Yonetani N, Matsushita A, Miyakoshi C, Doi A, Ishikawa T. Humoral response and safety of the BNT162b2 and mRNA-1273 COVID-19 vaccines in patients with haematological diseases treated with anti-CD20 antibodies: An observational study. *Br J Haematol.* 2022;197(6):709-713.

28.Nakagama Y, Chi SG, Minami Y, Watanabe R, Yamagishi M, Atsuko U, Kido Y. Patients with B-cell malignancies experience reduced antibody responses with class switching defect following BNT162b2 SARS-CoV-2 vaccination. *J Infect Chemother.* 2023;29(1):112-114.

29.Thimme R. T cell immunity to hepatitis C virus: Lessons for a prophylactic vaccine. *J Hepatol.* 2021;74(1):220-229.

30.Thimme R, Wieland S, Steiger C, Ghayeb J, Reimann KA, Purcell RH, Chisari FV. CD8(+) T cells mediate viral clearance and disease pathogenesis during acute hepatitis B virus infection. *J Virol.* 2003;77(1):68-76.

31. Bremer W, Blasczyk H, Yin X, Salinas E, Grakoui A, Feng Z, Walker C. Resolution of hepatitis E virus infection in CD8⁺ T cell-depleted rhesus macaques. *J Hepatol.* 2021;75(3):557-564.
32. Csernalabics B, Marinescu MS, Maurer L, Kelsch L, Werner J, Baumann K, Zoldan K, Panning M, Reuken P, Bruns T, Bengsch B, Neumann-Haefelin C, Hofmann M, Thimme R, Dao Thi VL, Boettler T. Efficient formation and maintenance of humoral and CD4 T-cell immunity targeting the viral capsid in acute-resolving hepatitis E infection. *J Hepatol.* 2024;80(4):564-575.
33. Suneetha PV, Pischke S, Schlaphoff V, Grabowski J, Fytli P, Gronert A, Bremer B, Markova A, Jaroszewicz J, Bara C, Manns MP, Cornberg M, Wedemeyer H. Hepatitis E virus (HEV)-specific T-cell responses are associated with control of HEV infection. *Hepatology.* 2012;55(3):695-708.
34. Rivero-Juarez A, Lopez-Lopez P, Frias M, Rivero A. Hepatitis E Infection in HIV-Infected Patients. *Front Microbiol.* 2019;10:1425.
35. Jothikumar N, Cromeans TL, Robertson BH, Meng XJ, Hill VR. A broadly reactive one-step real-time RT-PCR assay for rapid and sensitive detection of hepatitis E virus. *J Virol Methods.* 2006;131(1):65-71.
36. le Coutre P, Meisel H, Hofmann J, Rocken C, Vuong GL, Neuburger S, Hemmati PG, Dorken B, Arnold R. Reactivation of hepatitis E infection in a patient with acute lymphoblastic leukaemia after allogeneic stem cell transplantation. *Gut.* 2009;58(5):699-702.
37. Cardinez C, Miraghazadeh B, Tanita K, da Silva E, Hoshino A, Okada S, Chand R, Asano T, Tsumura M, Yoshida K, Ohnishi H, Kato Z, Yamazaki M, Okuno Y, Miyano S, Kojima S, Ogawa S, Andrews TD, Field MA, Burgio G, Morio T, Vinuesa CG, Kanegane H, Cook MC. Gain-of-function IKBKB mutation causes human combined immune deficiency. *J Exp Med.* 2018;215(11):2715-2724.

38. Ingwersen V, Hofmann J, Muche M, Le Coutre P, Schneider T, Leng C, Burmeister T, Maschmeyer G, Keller U, Schwartz S. Variable outcomes of hepatitis E infections in patients with hemato-oncologic diseases. *Oncol Res Treat.* 2023;46(7-8):296-302.
39. Swartling L, Norden R, Samuelsson E, Boriskina K, Valentini D, Westin J, Norder H, Sparrelid E, Ljungman P. Hepatitis E virus is an infrequent but potentially serious infection in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant.* 2020;55(7):1255-1263.
40. Kamar N, Abravanel F, Selves J, Garrouste C, Esposito L, Lavayssiere L, Cointault O, Ribes D, Cardeau I, Nogier MB, Mansuy JM, Muscari F, Peron JM, Izopet J, Rostaing L. Influence of immunosuppressive therapy on the natural history of genotype 3 hepatitis-E virus infection after organ transplantation. *Transplantation.* 2010;89(3):353-360.
41. Herishanu Y, Katchman H, Polliack A. Severe hepatitis B virus reactivation related to ibrutinib monotherapy. *Ann Hematol.* 2017;96(4):689-690.
42. Ogawa E, Wei MT, Nguyen MH. Hepatitis B Virus Reactivation Potentiated by Biologics. *Infect Dis Clin North Am.* 2020;34(2):341-358.
43. Melet J, Mulleman D, Goupille P, Ribourtout B, Watier H, Thibault G. Rituximab-induced T cell depletion in patients with rheumatoid arthritis: association with clinical response. *Arthritis Rheum.* 2013;65(11):2783-2790.
44. Lavielle M, Mulleman D, Goupille P, Bahaud C, Sung HC, Watier H, Thibault G. Repeated decrease of CD4+ T-cell counts in patients with rheumatoid arthritis over multiple cycles of rituximab treatment. *Arthritis Res Ther.* 2016;18(1):253.
45. Stroopinsky D, Katz T, Rowe JM, Melamed D, Avivi I. Rituximab-induced direct inhibition of T-cell activation. *Cancer Immunol Immunother.* 2012;61(8):1233-1241.
46. Hagihara M, Imai Y, Uchida T, Ohara S, Inoue M, Sugi T, Mitamura K. Successful Elimination of SARS-CoV-2 Following Vaccination with BNT162b2 after Prolonged Viral Infection in an Immunocompromised Lymphoma Patient. *Intern Med.* 2022;61(14):2215-2219.

47. Bange EM, Han NA, Wileyto P, Kim JY, Gouma S, Robinson J, Greenplate AR, Hwee MA, Porterfield F, Owoyemi O, Naik K, Zheng C, Galantino M, Weisman AR, Ittner CAG, Kugler EM, Baxter AE, Oniyide O, Agyekum RS, Dunn TG, Jones TK, Giannini HM, Weirick ME, McAllister CM, Babady NE, Kumar A, Widman AJ, DeWolf S, Boutemine SR, Roberts C, Budzik KR, Tollett S, Wright C, Perloff T, Sun L, Mathew D, Giles JR, Oldridge DA, Wu JE, Alanio C, Adamski S, Garfall AL, Vella LA, Kerr SJ, Cohen JV, Oyer RA, Massa R, Maillard IP, Maxwell KN, Reilly JP, Maslak PG, Vonderheide RH, Wolchok JD, Hensley SE, Wherry EJ, Meyer NJ, DeMichele AM, Vardhana SA, Mamtani R, Huang AC. CD8(+) T cells contribute to survival in patients with COVID-19 and hematologic cancer. *Nat Med.* 2021;27(7):1280-1289.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Viktoria Viola Ingwersen, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Infektionen mit dem Hepatitis-E-Virus bei immunkompromittierten Patientinnen und Patienten mit hämatologischen Erkrankungen“/„Infections with the hepatitis E virus in immunocompromised patients with hematologic diseases“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultate (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Erstbetreuer, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte. Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe. Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum Unterschrift

Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

Publikation: Ingwersen V, Hofmann J, Muche M, Le Coutre P, Schneider T, Leng C, et al., Variable outcomes of hepatitis E infections in patients with hemato-oncologic diseases. *Oncology Research and Treatment*, 2023

Die promovierende Person, Frau Viktoria Ingwersen, hatte folgende Beiträge zur Publikation:

- Mitarbeit bei der Formulierung der Forschungsfrage und Planung der Durchführung (60%).
- Planung der Datenerhebung und Erfassung der klinischen Daten der Patientinnen und Patienten, die in die Fallserie eingeschlossen wurden (90%).
- Auswertung der Ergebnisse und Erstellung von Abbildungen, Grafiken und Tabellen inkl. Datenaktualisierung (90%).
- Wiederholte Literaturrecherche (100%) und Erstellen der ersten Version des Manuskripts (80%) der Publikation sowie Mitarbeit bei der wiederholten Überarbeitung des Manuskripts auf der Grundlage von Reviewer-Kommentaren (80%).

In Zusammenarbeit mit den Betreuern (PD Dr. Stefan Schwartz, Prof. Dr. Jörg Hofmann) wurden die Arbeitsschritte Planung, Begutachtung und Erstellung des Manuskripts der Publikation durchgeführt.

Weitere an der Publikation beteiligte Koautorinnen und Koautoren waren vor allem bei der Bereitstellung von Daten und der Dateninterpretation sowie bei der Manuskriptüberarbeitung beteiligten und Dateninterpretation, sowie an der Überarbeitung des Manuskriptes beteiligt.

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers

Unterschrift der Doktorandin

Introduction

The hepatitis E virus (HEV) is a RNA virus causing a high global disease burden [1]. In the developing world, where HEV is most prevalent, infections are mostly due to poor sanitary conditions, and severe or fatal HEV infections have been reported during late pregnancy, in very young children (<2 years) and in patients with preexisting liver diseases. In developed countries, foodborne transmission (e.g., consumption of undercooked meat) or unscreened blood and tissue donation are the major routes of infection [2]. The HEV antibody prevalence exceeds 30–50% in some areas of developed countries, with some decrease recently reported from the USA and Germany [3]. Chronic infections are observed in immunocompromised patients such as those with solid organ transplantation [4]. The diagnosis of HEV infection in immunocompromised patients may be challenging, as elevation of liver function tests (LFTs) may only be moderate and attributable to various causes such as drug toxicity or chronic graft-versus-host disease [5]. It has been reported that persistent HEV replication in immunocompromised hosts may result in liver failure [6, 7].

Ribavirin is currently the only widely accepted treatment option for HEV infection, whereas other therapies display less or no success [8]. However, ribavirin is not approved for this indication and recommendations on its use are less well defined [9]. Data on HEV infections in immunocompromised patients have predominantly been gained from organ transplant recipients, and reports on HEV infections among patients with hematologic malignancies (HMs) are limited [7, 10, 11]. We retrospectively evaluated patients with HM or other states of immunosuppression and HEV infections treated at our tertiary care cancer center and sought to identify potential hallmarks associated with outcomes.

Materials and Methods

Patients were retrospectively identified from the laboratory database without any predefined diagnostic algorithm. This study was approved by the Ethics Committee of the Charité University Hospital of Berlin. Due to the retrospective, anonymized data analysis, waiver for consent from patients was granted.

Anti-HEV IgM and IgG were analyzed by ELISA and immunoblot (recomWell and recomBlot, Microgen GmbH, Neuried, Germany). Real-time RT-PCR for the detection of HEV-RNA targeting the viral ORF3 was used as previously described [12].

Decisions about the use of ribavirin were made by the treating physicians. The duration of the infection was estimated from the first positive PCR (or positive serology in patients without an initial PCR) until the first negative PCR (patients with virological responses) or until the last follow-up PCR (patients without responses). Virological responses (VR) were classified as sustained VR (SVR) in patients with consistently negative HEV-PCR results for ≥ 3 months, or as VR in patients with negative results during an available follow-up of <3 months or return of LFTs to a normal

range (or to pre-HEV levels attributed to known causes such as graft-versus-host disease).

Quantification of lymphocyte subsets was performed using routine flow cytometry. For comparisons of T-cell subsets, we identified patients with available lymphocyte subset quantifications close to the onset of the HEV infection (within 3 months prior) and a confirmed SVR, or in patients with a relapse after VR, close to an interval of 3 months after the first negative HEV-PCR test.

Statistical comparisons for continuous variables were performed by using the Mann-Whitney test. Differences were regarded as significant at a p value ≤ 0.05 . Calculations were performed with a commercially available software package (GraphPad Software Inc., San Diego, USA).

Results

Twenty-two patients, with one exception, were diagnosed during March 2015–November 2021 (median age: 59 years, range: 18–84; 15 male). A single patient, whose early course has already been reported, was diagnosed in 2007 [13]. The number of samples analyzed per patient by PCR widely ranged (2–26; median 8). Ten of 22 patients received ribavirin, and we found no indication toward a more frequent use of ribavirin in recently diagnosed patients (Table 1). One of 12 patients without and 3 of 10 patients with ribavirin therapy did not experience a viral clearance. There was a non-significant trend toward a longer median duration of the HEV infection in patients who received ribavirin treatment compared to those without antiviral therapy (3 vs. 1.8 months, $p = 0.07$). Overall, 20 of the 22 patients suffered from HMs, and 9 had received a hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). Patient 22 (Table 1) had several underlying diseases, including a combined immunodeficiency associated with a heterozygous *KAT2A* mutation. Another patient had a combined immunodeficiency due to heterozygous *IKBKB* mutation (patient 21) [14]. The HEV infection was confirmed by detection of HEV-RNA except for 2 patients, who were anti-HEV IgM positive.

Twelve patients did not receive any antiviral therapy. Of these, 11 cleared the infection (Table 1), including 3 patients post allogeneic HSCT (alloHSCT). Another alloHSCT patient (patient 12; Table 1) without ribavirin therapy, whose early course has already been reported [13], had repeatedly detectable HEV-RNA during further follow-up. This patient acquired the HEV infection prior to alloHSCT, whereas the intervals between alloHSCT and known onset of the HEV infection in the 3 other patients were >6 months. Ten patients received ribavirin treatment. Daily ribavirin doses were ≥ 800 mg in 9 patients and the minimum treatment duration was 2.9 months, except for a single patient (patient 17). Overall, 7 of 10 patients responded to ribavirin treatment (SVR 6, VR 1). The remaining 3 patients experienced a relapse despite adequate ribavirin doses and a treatment

Table 1. Detailed characteristics of 22 immunocompromised patients infected with the HEV

No.	Sex	Age, years	Underlying disease	Treatment	Duration treatment, months	Daily ribavirin dosage, mg	Duration of infection, months	Virological response	Cause of death	CD4+ cells [μL^{-1} median (range), No. of measurements	Max. IgG-level ¹ , g/L
1	F	47	B-CLL	None	-	-	0.3	SVR	-	(1,169), 1	9.93
2	M	84	B-CLL	Idelalisib ²	-	-	1.8	SVR	-	877 (52.5–980), 11	1.58
3	F	64	NHL ³	Chemotherapy/brentuximab	-	-	9.0	SVR	-	(660), 1	30.49
4	F	74	AML	Chemotherapy	-	-	9.5	SVR	Infection other than HEV	-	-
5	M	56	AML	alloHSCt	-	-	2.2	SVR	-	(580), 1	6.96
6	M	64	AML	alloHSCt	-	-	0.8	SVR	-	-	15.43
7	F	54	AML	alloHSCt	-	-	1.6	SVR	-	(150, 90), 2	2.47
8	M	77	Hodgkin Lymphoma	Chemotherapy	-	-	1	SVR	-	(370, 449), 2	-
9	F	54	Multiple myeloma	Carfilzomib, lenalidomide	-	-	3.2	SVR	-	(120), 1	2.93
10	M	48	Head and neck cancer	dexamethasone	-	-	Unknown ⁴	VR	Infection other than HEV	-	-
11	M	54	AML	Chemotherapy	-	-	1.2	VR	Infection other than HEV	-	-
12 ⁵	M	31	ALL	alloHSCt	-	-	25.6	Failure	Infection other than HEV	-	7.33
13	M	74	MCL	alloHSCt	3	800	11.2	SVR	-	149 (51–400), 15	5.45
14	M	51	Composite lymphoma	alloHSCt	3	800	2.9	SVR	-	220 (80–340), 8	6.39
15	M	18	ALL	Chemotherapy	3	800	1.9	SVR	-	-	8.87
16	M	67	B-CLL	Rituximab/ bendamustine	3	1,200 ⁶	3.0	SVR	-	130 (110–291), 4	11.94
17	M	59	Hodgkin lymphoma	Brentuximab/ chemotherapy	1	600	2.1	SVR	-	-	18.73
18	F	61	B-CLL, early-stage vulvar carcinoma	ibrutinib, Ig replacement	2.9	2,000 ⁷	2.8	SVR	-	(170, 720), 2	5.26
19	M	63	NHL ⁸	alloHSCt	7	1,000	2.1	VR	Lymphoma	-	-
20	M	65	NHL ⁹	alloHSCt	3	1,200	27.8	Relapse after VR	Liver failure	200 (140–250), 5	20.79
21	F	48	Combined immunodeficiency	Ig replacement	3.6 ¹⁰	1,000	53.8	Relapse after VR	Liver failure	180 (90–380), 22	7.55 ¹¹
22	M	59	Combined immunodeficiency, NHL ¹² , NEC, early gastric cancer	Chemotherapy, Ig replacement	10.8	800 ¹³	12.7	Relapse after VR	-	160 (60–190), 9	11.67

ALL, acute lymphoblastic leukemia; AML, acute myeloid leukemia; B-CLL, B-cell chronic lymphocytic leukemia; MCL, mantle cell lymphoma; NEC, neuroendocrine cancer; NHL, non-Hodgkin lymphoma; alloHSCt, autologous hematopoietic stem cell transplantation; alloHSCt, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; SVR, sustained virological response; VR, virological response. ¹Data of up to 3 months prior diagnosis of HEV infection or start of ribavirin were included. ²Idelalisib terminated upon recognition of the HEV infection. ³Angioimmunoblastic T-cell lymphoma. ⁴Lacking follow-up data. ⁵The early course of this patient has been reported previously [13], during an extended observation period until day 732 post alloHSCt repetitive and transient HEV-PCR positivity in plasma and cerebrospinal fluid was recorded. ⁶Initial daily dose 1,200 mg, paused after 6 weeks due to neutropenia and continued at a daily dosage of 400 mg. ⁷Initial daily dose 2,000 mg for 8 weeks and continued at a daily dosage of 1,000 mg. ⁸Sequential follicular lymphoma and T-cell non-Hodgkin lymphoma. ⁹Sequential follicular lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma 12 years after Hodgkin lymphoma. ¹⁰Following 3 months of ribavirin treatment and relapse, two retreatments were given for another 6 months (one together with peginterferon alpha-2a). ¹¹Trough level 3 months prior to first Ig replacement. ¹²Diffuse large B-cell lymphoma. ¹³Ongoing for ≥ 8 months with transient dose reduction down to 400 mg daily for 2 months.

duration ≥ 3 months. Patient 20 required intensive care treatment due to severe infections, which precluded a second course of ribavirin. This patient deceased due to liver failure after prolonged duration (>27 months) of the HEV infection. Patient 21 received two subsequent courses of ribavirin (one combined with peginterferon alfa-2a) for 6 months, which again resulted only in a transient response. This patient died due to liver failure after more than 4 years with refractory HEV infection. Patient 22 suffering from combined immunodeficiency and three distinct malignancies relapsed after a transient VR.

The numbers of circulating CD4+ cells were available in 7 patients without ribavirin therapy and were $>200 \mu\text{L}$ in 5 patients with spontaneous viral clearance (Table 1). Three patients disclosed remarkable findings. Patient 13 showed elevated LFTs and persistently low numbers of CD4+ cells following autologous HSCT (autoHSCT). The HEV serology on day 287 post autoHSCT was negative, but retrospective analysis of a stored plasma sample demonstrated presence of 2,870,000 HEV-RNA copies/mL already on day 295 (Fig. 1a). Ribavirin was given for 3 months, which resulted in an SVR. Of note, the numbers of circulating CD4+ cells consistently increased to $>200/\mu\text{L}$ in parallel to the virological response (Fig. 1a). Patient 14 developed elevated LFTs after autoHSCT. In this patient, the initial numbers of circulating CD4+ cells were low and showed a recovery in parallel to a response to ribavirin (Fig. 1b).

Patient 2 (Table 1), an 84-year old male with B-cell chronic lymphocytic leukemia experienced a spontaneous SVR despite a profound hypogammaglobulinemia (IgG $<1.6 \text{ g/L}$, previous anaphylaxis precluded immunoglobulin replacement). The baseline numbers of CD4+ cells in this patient were normal and further increased with waning HEV-RNA load (Fig. 1c).

Sequential numbers of circulating CD4+ T cells were available in 9 patients. Of these, 6 patients experienced an SVR and 3 patients relapsed after a transient response to ribavirin. We observed an increase of the numbers of CD4+ circulating T cells in 5 of 6 patients with an SVR, whereas patients with a relapse showed a decrease of CD4+ T-cell counts (2 patients) or a slight increase (1 patient) only (Fig. 2). The median ratio of the CD4+ T-cell counts (follow-up/prior) was 2.8 in patients with an SVR compared to only 1.0 in patients with a relapse, but this did not reach statistical significance ($p = 0.17$).

Discussion

The number of identified patients at our tertiary care cancer center is relatively low, which is in line with previous reports [7, 11, 15]. However, patients were not systematically tested (no diagnostic algorithm), and

HEV infections might have been missed. In a recently published, retrospective study, eight (3.4%) of 236 alloHSCT patients were positive for HEV-RNA [15]. Five of these patients were negative for anti-HEV antibodies. Patient 13 from the present study was also negative for anti-HEV antibodies despite a high viral load, which corroborates recommendations to use molecular testing for reliable recognition of HEV infections in immunocompromised patients [9, 16].

It is noteworthy that 3 alloHSCT patients experienced a spontaneous SVR, which is possibly linked to a late onset of the HEV infection after transplantation. A reduction of current immunosuppressive treatment is recommended, but this is largely based on observations in solid organ transplant recipients [9, 16]. In a series of 16 patients with chronic HEV infections post solid organ transplantation, patients with low tacrolimus trough levels were more likely to clear the infection [17]. A reduction of the immunosuppression was reported to be successful in HSCT patients with HEV infection [10, 18] but was associated with mortality in 2 patients with alloHSCT in another study [7], so that this approach must be carefully balanced against potentially life-threatening deterioration of autoimmune reactions.

The importance of adequate B-cell responses has been well acknowledged for infections with the hepatitis B and C virus. Various B-cell-directed therapies increase the risk of hepatitis B reactivation [19, 20]. Also, reactivation and flares have been observed in frequent association with rituximab-based and high-dose steroid therapies in patients infected with the hepatitis C virus [21]. It is less clear, whether B-cell responses are of major importance in HEV infections. In a recently published series of 5 patients with chronic HEV infection following therapy with the B-cell-targeting antibody rituximab, only 1 patient responded to ribavirin with an SVR [22]. In another retrospective patient series, CD20-directed therapies correlated with a prolonged time to viral clearance and the development of chronic hepatitis [11]. However, the spontaneous SVR in our patient with B-cell chronic lymphocytic leukemia, who had profound hypogammaglobulinemia but normal CD4+ cells, suggests that a B-cell response might not be essentially required for HEV clearance.

Lymphopenia and low CD4+ T-cell numbers have been associated with chronic HEV infections in patients with solid organ transplantation [6]. Similarly, baseline lymphopenia was significantly associated with treatment failures in patients with solid organ transplantation and chronic HEV infection [23]. It has been demonstrated that specific T-cell responses were significantly lower and absent in patients with solid organ transplantation and chronic HEV infection compared to patients with resolved HEV infection [24]. Similar data in patients with HM are scarce. In the aforementioned series of patients

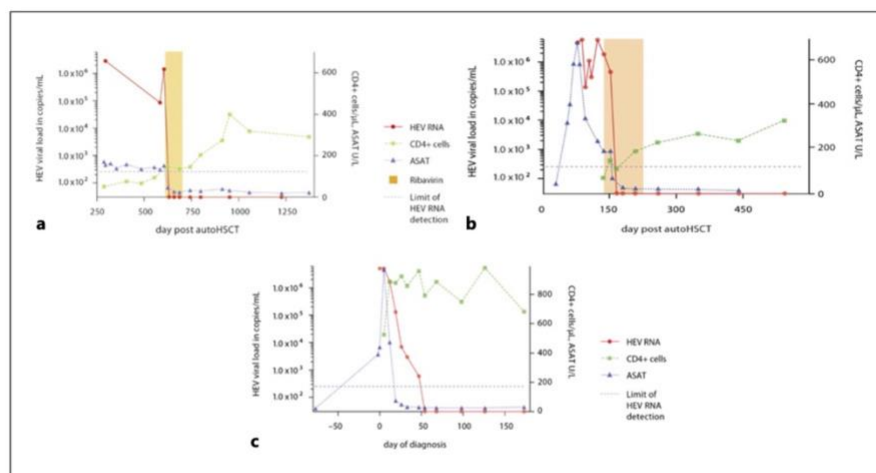


Fig. 1. Detailed responses and numbers of CD4+ T-cells in 3 patients with HEV infections: **a** Patient No. 13 with mantle cell lymphoma, autologous hematopoietic stem cell transplantation (autoHSCT), and ribavirin therapy. **b** Patient No. 14 with composite lymphoma, autoHSCT, and ribavirin

therapy. **c** Patient No. 2 with B-CLL, profound immunoglobulin deficiency (IgG <1.6 g/L), but persistently normal CD4+ lymphocyte counts, and spontaneous termination of the HEV infection. Upper limit of normal for ASAT <50 U/L. B-CLL = B-cell chronic lymphocytic leukemia.

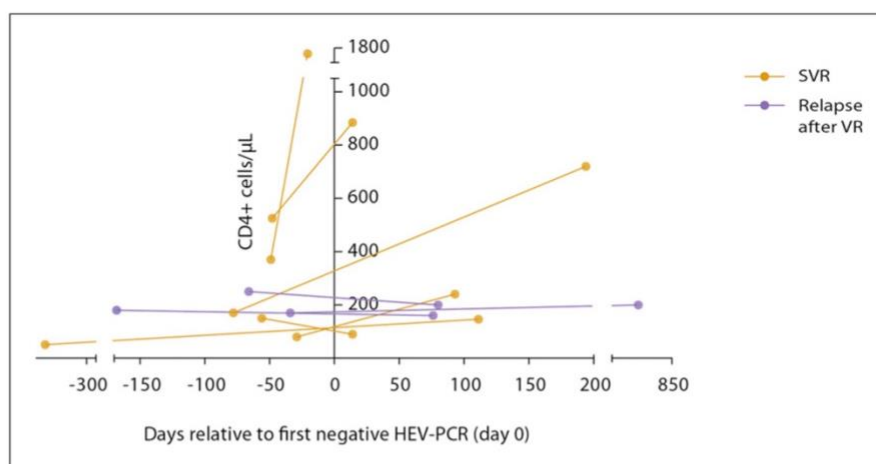


Fig. 2. Serial numbers of CD4+ T cells in patients with a sustained virological response (SVR) or relapse after initial virological response (VR).

with chronic HEV infection following therapy with rituximab, all 5 patients presented with CD4-lymphopenia (<200/ μ L) [22]. The remarkable recovery from CD4-lymphopenia in 2 patients from our study and increasing numbers of CD4+ T-cells in the majority of patients with VRs likely reflects recovery from T-cell exhaustion. This is in line with observations in HIV/HEV-coinfected

patients, which indicated that HEV clearance is associated with higher CD4+ cell counts [25].

Our study expands the limited knowledge about HEV infections in patients with HMs. The observation of CD4+ T-cell recoveries in association with viral responses may indicate an early response marker. However, this was a retrospective study in a limited number of patients

without standardized diagnostic assessments and individual therapeutic decisions. Thus, more detailed studies with standardized protocols are needed.

Conclusions

Early ribavirin treatment in immunocompromised patients infected with HEV and CD4-lymphopenia appears meaningful to prevent chronic HEV infections. Patients infected with HEV and normal numbers of circulating CD4+ T cells might be observed without treatment awaiting spontaneous termination of HEV replication, but efforts to avoid chronic HEV infections appear mandatory.

Acknowledgments

Mrs. Ingwersen is a MD candidate at the Charité – Universitätsmedizin Berlin, corporate member of Freie Universität Berlin and Humboldt-Universität zu Berlin, Berlin, Germany. This work is submitted in partial fulfillment of the requirement for the MD. The authors would like to thank Thomas Bauer for graphic design.

Statement of Ethics

This study was approved by the Ethics Committee of the Charité – Universitätsmedizin Berlin (ref. No. EA4/016/19, 27th, February 2019) and the principles set forth in the Declaration of Helsinki were followed. Patient consent was waived due to the retrospective nature of this study and anonymized data analysis, according to national regulations.

Conflict of Interest Statement

P. L. C. has received consulting fees from Novartis, Incyte, BMS, honoraria from Novartis, BMS, Pfizer, Incyte; G. M. has received honoraria from Amgen, Gilead, Merck Serono, Janssen-Cilag, payments from the German Cancer Society and German Society

References

- Nimgaonkar I, Ding Q, Schwartz RE, Ploss A. Hepatitis E virus: advances and challenges. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;15(2):96–110.
- Li P, Liu J, Li Y, Su J, Ma Z, Bramer WM, et al. The global epidemiology of hepatitis E virus infection: a systematic review and meta-analysis. *Liver Int*. 2020;40(7):1516–28.
- Sooryanarain H, Meng XJ. Hepatitis E virus: reasons for emergence in humans. *Curr Opin Virol*. 2019;34:10–7.
- Kamar N, Mansuy JM, Esposito L, Legrand-Abravanel F, Peron JM, Durand D, et al. Acute hepatitis and renal function impairment related to infection by hepatitis E virus in a renal allograft recipient. *Am J Kidney Dis*. 2005;45(1):193–6.
- Ruutu T, Carreras E. Hepatic complications. 7th ed. In: Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kroger N, editors. *The EBMT handbook: hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies*. Cham: CH; 2019. p. 373–9.
- Kamar N, Selves J, Mansuy JM, Ouezani L, Peron JM, Guitard J, et al. Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *N Engl J Med*. 2008;358(8):811–7.
- von Felden J, Alric L, Pischke S, Aitken C, Schlabe S, Spengler U, et al. The burden of hepatitis E among patients with haematological malignancies: a retrospective European cohort study. *J Hepatol*. 2019;71(3):465–72.
- Schulz M, Papp CP, Bock CT, Hofmann J, Gerlach UA, Maurer MM, et al. Combination therapy of sofosbuvir and ribavirin fails to clear chronic hepatitis E infection in a multi-visceral transplanted patient. *J Hepatol*. 2019; 71(1):225–7.
- European Association for the Study of the Liver Electronic address easloffice@easloffice.eu/European Association for the Study of the Liver. *EASL clinical practice Guidelines on hepatitis E virus infection*. *J Hepatol*. 2018;68(6):1256–71.
- Versluis J, Pas SD, Agteresch HJ, de Man RA, Maaskant J, Schipper ME, et al. Hepatitis E virus: an underestimated opportunistic pathogen in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2013;122(6):1079–86.

for Hematology and Medical Oncology as a member of Guidelines Writing Committees; and S. S. has received consulting fees from Amgen, Gilead, Pfizer, SERB SAS, honoraria from the Akademie für Infektionsmedizin e.V., Amgen, AVIR Pharma, CSi Hamburg GmbH, Gilead, Labor28, Novartis, Persberg Group GmbH/DGIM e.V., Pfizer, Vivantes GmbH, financial support for research projects from Protherics Medicines Development Ltd, and travel grants from Gilead and Novartis, all of which unrelated to the topic of this paper. All other authors have no conflicts of interest to declare.

Funding Sources

This research was funded by a grant to J.H. from the German Federal Ministry of Health with regard to a decision of the German Bundestag by the Federal Government, CHED-project grant No: ZMV11-2516-AUK-701/BMG: 321-4471-02/157. The funders had no role in the design of the study, in the collection, analyses, or interpretation of data, and in the writing of the manuscript.

Author Contributions

VI, TS has made substantial contributions to the conception and design of the work, acquired, analyzed, and interpreted data, and has drafted the work. JH and SS has made substantial contributions to the conception and design of the work, acquired, analyzed, and interpreted data, and was a major contributor in writing the manuscript. MM, CL, and TB acquired, analyzed, and interpreted data, and has drafted the work. PLC acquired, analyzed, and interpreted data, and has drafted the work. GM and UK has made substantial contributions to the conception and design of the work, analyzed, and interpreted data, and was a major contributor in writing the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Data Availability Statement

All data generated or analyzed during this study are included in this article. Further inquiries can be directed to the corresponding author.

- 11 Ghandili S, Lindhauer C, Pischke S, Zur Wiesch JS, Von Kroge PH, Polywka S, et al. Clinical features of hepatitis E infections in patients with hematologic disorders. *Haematologica*. 2022;107(12):2870–83.
- 12 Jothikumar N, Cromeans TL, Robertson BH, Meng XJ, Hill VR. A broadly reactive one-step real-time RT-PCR assay for rapid and sensitive detection of hepatitis E virus. *J Virol Methods*. 2006;131(1):65–71.
- 13 le Coutre P, Meisel H, Hofmann J, Rocken C, Vuong GL, Neuburger S, et al. Reactivation of hepatitis E infection in a patient with acute lymphoblastic leukaemia after allogeneic stem cell transplantation. *Gut*. 2009;58(5):699–702.
- 14 Cardinez C, Miraghazadeh B, Tanita K, da Silva E, Hoshino A, Okada S, et al. Gain-of-function IKKB mutation causes human combined immune deficiency. *J Exp Med*. 2018;215(11):2715–24.
- 15 Swartling L, Norden R, Samuelsson E, Boriskina K, Valentini D, Westin J, et al. Hepatitis E virus is an infrequent but potentially serious infection in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant*. 2020;55(7):1255–63.
- 16 Mallet V, van Bommel F, Doerig C, Pischke S, Hermine O, Locasciulli A, et al. Management of viral hepatitis in patients with haematological malignancy and in patients undergoing haemopoietic stem cell transplantation: recommendations of the 5th European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL-5). *Lancet Infect Dis*. 2016;16(5):606–17.
- 17 Kamar N, Abravanel F, Selves J, Garrouste C, Esposito L, Lavayssiere L, et al. Influence of immunosuppressive therapy on the natural history of genotype 3 hepatitis-E virus infection after organ transplantation. *Transplantation*. 2010;89(3):353–60.
- 18 Mikulska M, Penack O, Wendel L, Knelange N, Cornelissen JJ, Blijlevens N, et al. HEV infection in stem cell transplant recipients-retrospective study of EBMT Infectious Diseases Working Party. *Bone Marrow Transplant*. 2022;57(2):167–75.
- 19 Herishanu Y, Katchman H, Polliack A. Severe hepatitis B virus reactivation related to ibrutinib monotherapy. *Ann Hematol*. 2017;96(4):689–90.
- 20 Ogawa E, Wei MT, Nguyen MH. Hepatitis B virus reactivation potentiated by biologics. *Infect Dis Clin North Am*. 2020;34(2):341–58.
- 21 Torres HA, Hosry J, Mahale P, Economides MP, Jiang Y, Lok AS. Hepatitis C virus reactivation in patients receiving cancer treatment: a prospective observational study. *Hepatology*. 2018;67(1):36–47.
- 22 Schulz M, Biedermann P, Bock CT, Hofmann J, Choi M, Tacke F, et al. Rituximab-containing treatment regimens may imply a long-term risk for difficult-to-treat chronic hepatitis E. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(1):341.
- 23 Kamar N, Izopet J, Tripon S, Bismuth M, Hillaire S, Dumortier J, et al. Ribavirin for chronic hepatitis E virus infection in transplant recipients. *N Engl J Med*. 2014;370(12):1111–20.
- 24 Suneetha PV, Pischke S, Schlaphoff V, Grabowski J, Fytily P, Gronert A, et al. Hepatitis E virus (HEV)-specific T-cell responses are associated with control of HEV infection. *Hepatology*. 2012;55(3):695–708.
- 25 Debes JD, Pisano MB, Lotto M, Re V. Hepatitis E virus infection in the HIV-positive patient. *J Clin Virol*. 2016;80:102–6.

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationsliste

Ingwersen V, Hofmann J, Muche M, Le Coutre P, Schneider T, Leng C, et al., Variable outcomes of hepatitis E infections in patients with hemato-oncologic diseases. *Oncology Research and Treatment*, 2023, 46 (7-8) 296-302.

Beiträge bei wissenschaftlichen Konferenzen und Workshops

Posterbeitrag „Hepatitis E Virus (HEV) Infections in Patients (pts) with Hematological Malignancies or other Immuncompromosing Conditions“, Ingwersen V, et al. *Oncol Res Treat* 2018; 41S4: 206 (P613). Jahrestagung der DGHO, 30.08.2018.

Vortrag „Hepatitis E Infektionen bei immunkompromittierten PatientInnen mit hämatologischen Erkrankungen“, Klinikkonferenz der medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie, Onkologie und Tumorimmunologie, Charité Campus Benjamin Franklin, 03.06.2019, Berlin.

Vortrag „Hepatitis E Infektionen bei PatientInnen mit hämatologischen Erkrankungen“, Hepatitis E Club des Robert-Koch-Institut, 05.08.2019, Berlin.

Vortrag „Hepatitis E Infektionen bei PatientInnen mit hämatologischen Erkrankungen“, 14. Workshop „Klinisch-Virologische Forschung“, Gesellschaft für Virologie, 20./21.11.2020, Würzburg.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei PD Dr. Stefan Schwartz für die Betreuung meiner Promotion zum Thema „Infektionen mit dem Hepatitis-E-Virus bei immunkompromittierten Patientinnen und Patienten mit hämatologischen Erkrankungen“ bedanken. Insbesondere bedanke ich mich bei ihm für den Vorschlag dieses spannenden Themas, die engagierte Anleitung meines Arbeitsprozesses und die zuverlässige und freundliche Kommunikation. Herr PD Dr. Stefan Schwartz unterstützte mich stets bei dem Zusammentragen der für diese Arbeit benötigten Daten und der Einordnung der Ergebnisse in den Kontext bereits bestehender wissenschaftlicher Erkenntnisse. Überdies ermöglichte mir Herr PD Dr. Stefan Schwartz die Präsentation der Zwischenergebnisse dieser Forschungsarbeit vor unterschiedlichen Fachpublika, was zum Gelingen dieser Dissertation wesentlich beitrug. Meine Begeisterung für die Forschung im klinischen Alltag, sowie für die Fachbereiche Infektiologie, Hämatologie und Onkologie wurde durch die Arbeit an dieser Promotion geweckt.

Herrn Prof. Dr. Jörg Hofmann danke ich vielmals für die Mitbetreuung dieser Promotion. Durch ihn wurden die Auswahl der Patientinnen und Patienten für diese Arbeit, sowie der Zugang zu wichtigen Daten möglich. Für die Vermittlung zur Teilnahme am Hepatitis E Club des Robert-Koch-Instituts möchte ich ihm ebenfalls meinen Dank ausdrücken. Die Teilhabe am wissenschaftlichen Austausch zum Thema hat mich in meiner Arbeit an dieser Promotion unterstützt.

Herzlich bedanke ich mich ebenfalls bei Frau Dr. Marion Muche für die Bereitstellung von Daten und die sehr gute Kooperation.