

Aus dem CharitéCentrum 13  
Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Nephrologie und  
Internistische Intensivmedizin  
Campus Virchow-Klinikum  
Klinikdirektor: Univ.-Prof. Dr. med. Kai-Uwe Eckardt  
Fachliche Leitung Transplantation: Prof. Dr. med. Petra Reinke

## **Habilitationsschrift**

# **Risikostratifizierung von Virusinfektionen nach Nierentransplantation und Bedeutung immunologischer Biomarker für Diagnostik und Prognose**

zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach  
Experimentelle Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

**Dr. med. Thomas Schachtner**

geboren in Erding

<b>Eingereicht:</b>	<b>August 2017</b>
<b>Dekan:</b>	<b>Prof. Dr. med. Axel R. Pries</b>
<b>1. Gutachter:</b>	<b>Prof. Dr. med. Michael Fischereeder</b>
<b>2. Gutachter:</b>	<b>Prof. Dr. med. Thomas Müller</b>

*Meinen Freunden*

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>3</b>
<b>Abkürzungen</b> .....	<b>4</b>
<b>1. Einleitung</b> .....	<b>5</b>
1.1 Ätiologie und zeitliches Auftreten von Infektionen nach Nierentransplantation .....	5
1.2 Prävention von Infektionen bei Patienten vor und nach Nierentransplantation .....	6
1.3 Spezifische Virusinfektionen nach Nierentransplantation.....	8
1.3.1 Cytomegalievirus (CMV).....	8
1.3.2 Polyomavirus BK (BKV).....	10
1.4 Immunologische Kontrolle latenter Virusinfektionen nach Nierentransplantation.....	12
1.5 Herausforderungen an Biomarker zur Risikostratifizierung von Virusinfektionen nach Nierentransplantation.....	14
<b>2. Methoden und Ergebnisse eigener Arbeiten</b> .....	<b>16</b>
2.1 Aktive CMV-Infektion und gewebeinvasive CMV-Erkrankung bei Patienten nach Nieren- und kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation .....	16
2.2 Polyomavirus BK-assoziierte Nephropathie bei Patienten nach Nieren- und kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation .....	26
2.3 Risikofaktoren der Polyomavirus BK-assoziierten Nephropathie in der frühen und späten Phase nach Nierentransplantation.....	37
2.4 Kinetik der CMV-spezifischen zellulären Immunität zur Risikostratifizierung der aktiven CMV-Infektion nach Nierentransplantation .....	50
2.5 Kinetik der BKV-spezifischen zellulären Immunität zur Risikostratifizierung der aktiven BKV-Infektion nach Nierentransplantation .....	63
2.6 Kinetik der BKV-spezifischen zellulären Immunität im Verlauf der aktiven BKV-Infektion nach Nierentransplantation .....	76
<b>3. Diskussion</b> .....	<b>90</b>
3.1 Risikostratifizierung von Virusinfektionen nach Nierentransplantation durch epidemiologische und demografische Faktoren .....	90
3.2 Risikostratifizierung von Virusinfektionen nach Nierentransplantation durch Charakterisierung der virusspezifischen zellulären Immunität .....	93
<b>4. Zusammenfassung</b> .....	<b>97</b>
<b>5. Literaturangaben</b> .....	<b>99</b>
<b>Danksagung</b> .....	<b>107</b>
<b>Erklärung</b> .....	<b>108</b>

## Abkürzungen

BKV	Polyomavirus BK
CD	<i>cluster of differentiation</i>
CMV	Cytomegalievirus
EBV	Epstein-Barr-Virus
ELISpot Assay	<i>Enzyme-Linked Immuno-Spot Assay</i>
HLA	humanes Leukozytenantigen, <i>human leukocyte antigen</i>
IE	<i>immediate early protein</i>
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex, <i>major histocompatibility complex</i>
pp65	<i>phosphoprotein 65</i>
VP	<i>viral capsid protein</i>

## 1. Einleitung

Am 23. Dezember 1954 gelang am *Brigham and Women's Hospital* in Boston, USA, durch John Murray, John Hartwell Harrison, John P. Merrill und andere die erste erfolgreiche Nierentransplantation durch eine Lebendspende zwischen eineiigen Zwillingenbrüdern. In den folgenden Jahrzehnten hat sich die Nierentransplantation durch die Einführung immunsuppressiver Medikamente und die Erprobung unterschiedlicher immunsuppressiver Kombinationstherapien als die allgemein anerkannte Therapie der Wahl bei geeigneten Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz etabliert. Die Anzahl der Patienten, die nach erfolgreicher Nierentransplantation auf eine chronische immunsuppressive Therapie angewiesen sind, ist im Speziellen durch die Verbesserung des Nierentransplantatüberlebens und die damit einhergehend höhere Lebenserwartung der Patienten in den letzten Jahren erheblich angestiegen. Als Folge dieser verbesserten Therapieoptionen konnten eine höhere Inzidenz und ein breiteres Spektrum opportunistischer Infektionen beobachtet werden, sodass das erhöhte Infektionsrisiko unter Immunsuppression aktuell die größte Bedrohung für ein langes Patienten- und Nierentransplantatüberleben darstellt (Fishman 2007; Fishman und Issa 2010; Martin-Gandul et al. 2015).

### 1.1 Ätiologie und zeitliches Auftreten von Infektionen nach Nierentransplantation

Unter ätiologischen Gesichtspunkten müssen bei Patienten nach Nierentransplantation konventionelle bakterielle und virale Infektionen von opportunistischen Infektionen durch unterschiedlichste Pathogene abgegrenzt werden (Fishman 2007). Das Infektionsrisiko wird hierbei zum einen durch die Exposition gegenüber Erregern und deren Kontagiosität und Infektiosität bestimmt und zum anderen durch die Stärke der Immunsuppression und der daraus resultierenden Suszeptibilität und Pathogenität für den Patienten (Fishman 2007; Fishman und Issa 2010).

In den ersten Wochen nach Nierentransplantation, häufig während des initialen Krankenhausaufenthaltes, stehen Infektionen im Vordergrund, die durch das Spenderorgan übertragen werden (Chong und Razonable 2013; Issa und Fishman 2009). Nosokomiale Blutstrominfektionen des Spenders, insbesondere solche durch multiresistente Erreger wie Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE) oder Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA), erhöhen das Risiko für die Entwicklung lebensbedrohlicher Infektionen beim Empfänger (Fishman und Grossi 2014). Zu den häufigsten Infektionen, die durch das Spenderorgan übertragen werden, zählen latente Virusinfektionen wie zum Beispiel das Cytomegalievirus (CMV) oder Epstein-Barr-Virus (EBV) aus der Gruppe der *Herpesviridae* und das Polyomavirus BK (BKV). Darüber hinaus ist die Übertragung seltener bakterieller, viraler, fungaler oder parasitärer Erreger durch das Spenderorgan, seltener auch durch Transfusionen, möglich und kann selbst durch intensive infektiologische Untersuchungen des Spenders nicht ausgeschlossen werden (Fischer et al. 2006; Vora et al. 2013; Seem et al. 2013; Mezochow et al. 2015).

Während des initialen Krankenhausaufenthaltes sind postoperative Infektionen von wesentlicher Bedeutung. Postoperative Infektionen nehmen insbesondere nach chirurgischen Revisionen, notwendigen intensivmedizinischen Behandlungen und bei prolongierter Hospitalisation zu. Hierzu zählen neben nosokomialen Infektionen wie Pneumonien und Harnwegsinfekte, vor allem Wundinfektionen, Katheterinfektionen, infizierte Hämatome, Lymphozelen oder Urinome (Fishman 2007; Fishman und Issa 2010). Vereinzelt können rezidivierende Infektionen durch

einen komplikationsreichen operativen und postoperativen Verlauf in den ersten Monaten nach Nierentransplantation fortbestehen.

Das höchste Risiko für opportunistische Infektionen haben Patienten nach Nierentransplantation in der Regel innerhalb des ersten Jahres nach Transplantation sowie im Zusammenhang mit einer Steigerung der Immunsuppression im Rahmen der Therapie von Abstoßungsreaktionen oder anderen individuellen immunsuppressiven Strategien. Zu den wichtigsten opportunistischen Infektionen nach Nierentransplantation zählen die Pneumocystis jirovecii Pneumonie, Erkrankungen durch Herpesviren wie Herpes-simplex-Virus 1 und 2, Varizella-zoster-Virus, CMV, EBV oder humanes Herpesvirus-6, humane Papillomaviren und Polyomaviren BK und JC. Ein besonders hohes Risiko für eine frühe Reaktivierung nach Transplantation haben Empfänger mit chronischer Hepatitis B-, Hepatitis C-, und Humane Immundefizienzvirus (HIV)-Infektion. Zu latenten Infektionen, die häufig erst Jahre nach Transplantation reaktivieren, gehören die Toxoplasmose, Tuberkulose und Erkrankungen durch nichttuberkulöse Mykobakterien (Fishman 2007; Aguado et al. 2009).

Als wichtige Risikofaktoren für das Auftreten opportunistischer Infektionen gelten Art und Stärke der Induktions- und Erhaltungsimmunsuppression, insbesondere die Anwendung T-Zell-depletierender Antikörper. Zudem deuten aktuelle Arbeiten auf eine geringere Inzidenz an aktiven CMV-, EBV oder BKV-Replikationen unter einer Erhaltungsimmunsuppression mit *mechanistic Target of Rapamycin* (mTOR)-Inhibitor und niedrig dosiertem Tacrolimus im Vergleich zu Mycophenolat Mofetil (MMF) mit Tacrolimus in Standarddosis hin (Egli et al. 2009; Witzke et al. 2012; Egli et al. 2013). Die Stärke der Immunsuppression wird durch die routinemäßig durchgeführte Bestimmung der Wirkstoffspiegel im Blut nur unzureichend erfasst. Vielmehr muss sie in Zusammenschau mit anderen Faktoren wie Grunderkrankung und Komorbiditäten, metabolischen Störungen, Immunmodulation durch chronische virale Infektionen sowie Interaktion und Sequenz der verschiedenen immunsuppressiven Therapien beurteilt werden (Issa und Fishman 2009).

Nach dem ersten Jahr nach Nierentransplantation, vor allem bei Patienten mit einem stabilen Transplantationsverlauf und stabiler Immunsuppression, überwiegen ambulant erworbene Infektionen. Zu den häufigen ambulant erworbenen Infektionen zählen unter anderem Infektionen der oberen und unteren Atemwege durch respiratorische Viren, wie dem Influenza-, Parainfluenza-, Adeno- oder dem Respiratorischen-Synzytial-Virus, ambulant erworbene bakterielle Pneumonien, bakterielle und virale Infektionen des Gastrointestinaltrakts sowie bakterielle Infektionen des Urogenitaltrakts (Fishman 2007; Fishman und Issa 2010).

## 1.2 Prävention von Infektionen bei Patienten vor und nach Nierentransplantation

Die Einleitung der Immunsuppression führt in der Regel nicht zum Verlust erworbener Immunität, weshalb der primären Prävention von Infektionen durch Vakzinierung eine zentrale Bedeutung zukommt (Kotton 2014). Impfantwort und Dauer des Impfschutzes sind unter Immunsuppression vermindert, sodass mit Ausnahme der Tetanus-Diphtherie-Impfung eine Verkürzung der Impfintervalle empfohlen wird. Die Grundimmunisierung für alle empfohlenen Impfungen sollte vor der Transplantation abgeschlossen sein. Zu den empfohlenen Impfungen für Patienten vor Nierentransplantation zählen Impfungen gegen Tetanus, Diphtherie, Poliomyelitis, Pertussis, Hepatitis B, Influenzavirus und Pneumokokken, nach serologischer Risikostratifizierung ggf. gegen Varizellen und bei Asplenie und Therapie mit Eculizumab zusätzlich gegen

Meningokokken und *Haemophilus influenzae* Typ B. Da der Impferfolg entscheidend von der Höhe der Immunsuppression abhängt, sind Impfungen speziell in den ersten sechs Monaten nach Transplantation nicht zu empfehlen. Für alle empfohlenen Impfstoffe gibt es keinen Nachweis für eine erhöhte Inzidenz von Abstoßungsreaktionen. Jedoch kommt es im Rahmen einer *bystander*-Aktivierung nicht selten zu einer passageren Verschlechterung der Transplantatfunktion. Lebendimpfstoffe sind aufgrund des Risikos der unkontrollierten Proliferation der attenuierten Lebendvaccine in der Regel kontraindiziert und sollten spätestens vier Wochen vor Transplantation abgeschlossen sein (Rubin et al. 2014).

Bei allen Patienten sollte zum Zeitpunkt der geplanten Nierentransplantation eine aktive Infektion weitestgehend ausgeschlossen oder zuvor ausreichend behandelt worden sein. In diesem Zusammenhang sollten Patienten mit erhöhtem Risiko auch auf eine Kolonisierung mit multiresistenten Erregern untersucht werden (Mularoni et al. 2015). Bei allen Empfängern einer Nierentransplantation besteht die Indikation für eine perioperative Antibiotikaprophylaxe, wobei Art und Dauer entsprechend des individuellen Risikos und der Stärke der Immunsuppression angepasst werden sollten. Insbesondere muss im Fall einer Besiedlung von Spender oder Empfänger mit multiresistenten Erregern ein Antibiotikum mit entsprechendem Wirkspektrum ausgewählt werden. Zudem erhalten alle Patienten nach Nierentransplantation eine Prophylaxe der *Pneumocystis jirovecii*-Pneumonie für sechs Monate mit Trimethoprim/ Sulfamethoxazol. Dies schützt zudem sicher vor einer Infektion mit *Toxoplasma gondii* (Fishman 2001).

Die antivirale Prophylaxe für die Primärinfektion und die Virusreaktivierung erfolgt individuell nach serologischer Risikostratifizierung und Stärke der Immunsuppression. Eine drei- bis sechsmonatige orale CMV-Prophylaxe mit Valganciclovir wird bei CMV-seronegativen Empfängern eines CMV-seropositiven Spenderorgans (hohes Risiko) und CMV-seropositiven Empfängern (intermediäres Risiko) empfohlen. Nach Absetzen der CMV-Prophylaxe kommt es jedoch bei bis zu einem Drittel der Patienten mit hohem Risiko zur CMV-Erkrankung. Ob bei Patienten mit intermediärem Risiko die Entscheidung zugunsten einer prophylaktischen oder präemptiven Therapiestrategie getroffen wird, kann von verschiedenen Faktoren abhängig gemacht werden. Hierzu zählen die Verfügbarkeit der Bestimmung der CMV-Viruslast sowie das Nebenwirkungsprofil und die Kosten der CMV-Prophylaxe (Kaminski et al. 2016; Witzke et al. 2012; Schachtner und Reinke 2016a). Eine Prophylaxe der primären oder reaktivierten EBV-Infektion ist nicht etabliert. Bei Patienten, die ein hohes Risiko für eine Reaktivierung des Herpes-simplex- oder Varizella-zoster-Virus haben, kann individuell eine Prophylaxe mit Aciclovir erwogen werden. Patienten mit chronischer Hepatitis B-Infektion erhalten eine Prophylaxe mit Nukleosidanaloga.

Patienten mit latenter Infektion durch *Mycobacterium tuberculosis* erhalten zur Prävention einer aktiven Tuberkulose für sechs bis zwölf Monate nach Transplantation eine antimykobakterielle Prophylaxe mit Isoniazid. Bei Patienten mit hohem Risiko für Pilzinfektionen, etwa solche mit langer intensivmedizinischer Behandlung und bekannter Kolonisierung mit Pilzen, kann im Einzelfall eine topische oder systemische antifungale Prophylaxe erwogen werden.

Nach Lymphozyten-depletierender Induktions- oder Rejektionstherapie wird die CMV-Prophylaxe erneut für weitere vier bis sechs Wochen und die Prophylaxe der *Pneumocystis jirovecii*-Pneumonie für weitere drei Monate angewendet.

### 1.3 Spezifische Infektionen nach Nierentransplantation

Aktive Infektionen mit Viren, insbesondere CMV, EBV, Hepatitis B, Hepatitis C, aber auch die allgemein verbreiteten respiratorischen Viren, können durch indirekte Effekte die Entwicklung anderer opportunistischer Infektionen begünstigen (Fishman 2007). Indirekte Effekte aktiver Virusinfektionen führen zu virusassoziierten Immunphänomenen mit Immundepression, die durch Lymphopenie zum gehäuften Auftreten von viralen Koinfektionen und durch Neutropenie im Speziellen zu bakteriellen oder fungalen Superinfektionen mit Fortschreiten zur Sepsis führen können (Meijers et al. 2015).

#### 1.3.1 Cytomegalievirus (CMV)

Das Cytomegalievirus (CMV) ist ein behülltes Virus mit doppelsträngiger DNA, das zur Familie der *Herpesviridae* zählt und nach Primärinfektion eine lebenslange Latenz in *cluster of differentiation* (CD)34-positiven hämatopoetischen Progenitorzellen und CD14-positiven Monozyten etabliert (Razonable und Humar 2013; Prösch et al. 1999). Durch die Primärinfektion über den Kontakt von Schleimhäuten mit infektiösen Körperflüssigkeiten erreicht CMV eine Seroprävalenz von etwa 60 % in der Bevölkerung. Bei Patienten nach Organtransplantation erfolgt die primäre oder sekundäre Infektion in der Regel durch die Übertragung des Organs oder durch Blutprodukte und führt zu einer CMV-Seroprävalenz von etwa 80 %. Für CMV-seronegative Empfänger, die ein CMV-seropositives Spenderorgan erhalten, ist das Risiko eine aktive CMV-Infektion zu entwickeln am höchsten. Die Inzidenz der aktiven CMV-Infektion nach Nierentransplantation liegt bei etwa 30-50 % und führt in etwa der Hälfte der Fälle zur CMV-Erkrankung (Reinke et al. 1999; Arthurs et al. 2008; Harvala et al. 2013; Schachtner und Reinke 2016a).

Zur Diagnostik der aktiven CMV-Infektion hat sich, nach initialer Risikostratifizierung durch den Nachweis CMV-spezifischer Immunglobulin M- und Immunglobulin G-Antikörper vor Transplantation, der Nachweis der CMV-Viruslast im Vollblut mittels quantitativer Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion (PCR) in der Routinediagnostik etabliert. Trotz des Mangels an internationaler Standardisierung ermöglicht die Bestimmung der CMV-Viruslast und besonders deren Kinetik eine Korrelation mit der Schwere der CMV-Infektion sowie die Beurteilung des Therapieerfolges (Emery et al. 2000; Razonable und Humar 2013; Razonable et al. 2013).

Hilfreich zur Diagnosesicherung können bei hohem Verdacht auf eine gewebeinvasive CMV-Erkrankung die zusätzliche Analyse von Urin, Liquor, bronchoalveolärer Lavage oder anderen Körperflüssigkeiten sowie die histopathologische und immunhistochemische Diagnostik sein, die jedoch nur selten den Nachweis der für CMV pathognomonischen Riesenzellen liefert.

Zur effektiven Kontrolle der CMV-Replikation ist eine hochspezifische CMV-spezifische Immunantwort notwendig. Diagnostisch werden diese Erkenntnisse genutzt und umgesetzt, indem man die CMV-spezifische zelluläre Immunantwort, die durch Gedächtniszellen vermittelt wird, quantitativ analysiert. Hierbei können CMV-spezifische T-Zellen detektiert werden, die nach Stimulation mit den CMV-spezifischen Nichtstrukturprotein *immediate early protein 1 und 2* (*IE1 / IE2*) und/oder dem Strukturprotein *phosphoprotein 65* (*pp65*) Interferon- $\gamma$  sezernieren. Als diagnostische Methoden werden der antikörperbasierte *Enzyme-Linked Immuno-Absorbent* (ELISpot) Assay oder die Durchflusszytometrie angewendet. Eine verminderte CMV-spezifische T-Zellantwort kann insbesondere Grund für häufig rezidivierende und persistierende aktive



CMV-Infektionen oder besonders schwere gewebeinvasive CMV-Erkrankungen sein (Cantisán et al. 2013; Kumar et al. 2009; Nickel et al. 2009).

Etwa 75 % der aktiven CMV-Infektionen manifestieren sich im ersten Jahr nach Nierentransplantation, wobei es sich bei etwa 50 % der Fälle um asymptomatische, bei den anderen 50 % um symptomatische CMV-Manifestationen handelt. Neben dem CMV-Syndrom, das durch unspezifische Symptome wie Fieber, Arthralgien, Leukopenie oder Thrombopenie gekennzeichnet ist, manifestiert sich die gewebeinvasive CMV-Erkrankung am häufigsten mit gastrointestinalen Symptomen wie Übelkeit, Erbrechen und Diarrhöen im Sinne einer CMV-Gastroenteritis/Kolitis. Andere Manifestationen wie die CMV-assoziierte Pneumonie, Hepatitis oder Pankreatitis sind nach Nierentransplantation selten. Die Mortalität der gewebeinvasiven CMV-Erkrankung nach Nierentransplantation ist niedrig und steht mit weniger als 1 % in erster Linie mit der CMV-assoziierten Pneumonie in Zusammenhang (Helanterä et al. 2014; Ljungman et al. 2017).

Zudem konnte gezeigt werden, dass eine Zytokin-vermittelte *bystander*-Aktivierung und Hochregulierung von spezifischen *human leukocyte antigen* (HLA)-Klasse-II-Antigenen durch aktive CMV-Infektionen zur Immunaktivierung mit erhöhtem Auftreten von akuten/subakuten zellulären Abstoßungsreaktionen führen können (Reinke et al. 1994; Kalil et al. 2005).

Die präemptive Therapiestrategie der aktiven CMV-Infektion sieht ein engmaschiges Monitoring der CMV-Viruslast nach Nierentransplantation in Abhängigkeit des individuellen Risikos des einzelnen Patienten vor. Hierbei wird bei Nachweis einer erhöhten CMV-Viruslast eine präemptive Therapie mit Valganciclovir oral, ggf. auch Ganciclovir intravenös begonnen und bis zum zweimalig negativen Nachweis der CMV-Viruslast fortgeführt (Kotton et al. 2013; Schachtner und Reinke 2016a; Witzke et al. 2012).

Die Therapie der schweren gewebeinvasiven CMV-Erkrankung erfolgt meist mittels Ganciclovir intravenös. Bei gutem Ansprechen kann auf eine orale Therapie mit Valganciclovir umgestellt werden und ähnlich der präemptiven Therapie bis zur zweimaligen negativen CMV-Viruslast fortgeführt werden. Bei jeder gewebeinvasiven schweren CMV-Erkrankung ist auch eine makroskopische Beurteilung der Schwere der Entzündung durch Ösophagogastroduodenoskopie, Koloskopie, bronchoalveolärer Lavage u. a. anzustreben. In Abhängigkeit des Risikos eines Rezidivs einer aktiven CMV-Infektion kann im Einzelfall die Fortführung einer Prophylaxe für drei Monate diskutiert werden (Razonable und Humar 2013). Eine relevante Reduktion der Immunsuppression steht aufgrund des erhöhten Risikos akuter zellulärer Abstoßungsreaktionen in der Regel nicht im Vordergrund bei der Therapie der aktiven CMV-Infektion. Im Falle einer schweren Leukopenie, die meist in unmittelbarem Zusammenhang mit der aktiven CMV-Infektion oder der antiviralen Therapie steht, sollte eine Reduktion von Mycophenolat Mofetil und ggf. Trimethoprim/Sulfamethoxazol in Erwägung gezogen werden, um die Gefahr einer Ganciclovir-Resistenz durch eine Unterdosierung der antiviralen Therapie zu vermindern.

Bei fehlendem Therapieansprechen im Sinne einer anhaltend erhöhten oder sogar steigenden CMV-Viruslast oder persistierender Symptome nach mindestens zweiwöchiger antiviraler Therapie sollte eine Resistenztestung mit Genotypisierung erfolgen. Risikofaktoren für die Entwicklung einer Ganciclovir-Resistenz stellen sehr hohe CMV-Viruslasten, Unterdosierung der antiviralen Therapie und fehlende CMV-spezifische Immunität dar (Myhre et al. 2011).

Zu neueren Virostatika mit geringerer Nephrotoxizität und Myelosuppression gehören Brincidofovir, Marivabir und Letemovir, die im Rahmen klinischer Studien der Phase III für die

Prophylaxe und Therapie der aktiven CMV-Infektion eingesetzt werden (Marty et al. 2013; Melendez und Razonable 2015).

Ein Impfstoff gegen CMV, der die CMV-Antigene Glykoprotein B und *phosphoprotein 65 (pp65)* enthält, zeigte in einer klinischen Studie der Phase II bei CMV-seronegativen Empfängern einer CMV-seropositiven Spenderniere keine Überlegenheit gegenüber Placebo (Griffiths et al. 2011; Rieder und Steininger 2014; Vincenti et al. 2017). Bei Patienten mit schwerer therapierefraktärer gewebeinvasiver CMV-Erkrankung wurde in klinischen Studien der Phase II der therapeutische Transfer CMV-spezifischer zytotoxischer T-Zellen erprobt und hat sich als eine effiziente und sichere Behandlungsstrategie immundefizienter Patienten erwiesen (Brestrich et al. 2009a; Brestrich et al. 2009b; Papadopoulou et al. 2013).

### 1.3.2 Polyomavirus BK (BKV)

Das Polyomavirus BK (BKV) ist ein unbehülltes Virus mit doppelsträngiger DNA aus der Gruppe der *Polyomaviridae* und unterteilt sich in vier Genotypen unterschiedlicher Virulenz. BKV verbleibt meist nach primärer Schmier- oder Tröpfcheninfektion im frühen Kindesalter latent in Tubulusepithel-, Urothel- und parietalen Plattenepithelzellen der Bowman-Kapsel der Niere und erreicht eine Seroprävalenz in der Bevölkerung von über 80 % (Gardner et al. 1984; Imperiale 2001; Drachenberg et al. 1999). Die frühen Transkripte des BKV-Genoms kodieren für zwei Nichtstrukturproteine, *small tumor-* und *large tumor-antigen*, und das Agnoprotein, das für die Morphogenese des Virus von Bedeutung ist, jedoch für die immunologische Kontrolle nicht von Bedeutung zu sein scheint (Leuenberger et al. 2007). Die späten Transkripte kodieren für die drei Strukturproteine *viral capsid proteins* VP-1, VP-2 und VP-3 (Gardner et al. 1984).

Während die BKV-Infektion bei immunkompetenten Individuen in seltenen Fällen mit einer asymptomatischen transienten BKV-Virurie einhergehen kann, besteht bei Patienten nach Nierentransplantation ein erhöhtes Risiko für eine BKV-assoziierte Nephropathie, die sich als tubulointerstitielle Nephritis und in seltenen Fällen als Ureterstenose manifestiert (Randhawa et al. 1999).

Die Stärke der Immunsuppression, vor allem eine Kombination von Tacrolimus und Mycophenolat Mofetil und die Gabe von Lymphozyten-depletierenden Antikörpern zur Induktions- oder Abstoßungstherapie, wird als wichtigster Risikofaktor für die Entwicklung einer aktiven BKV-Replikation mit Auftreten von BKV-Virurie, BKV-Virämie und dem Fortschreiten zu einer BKV-assoziierten Nephropathie angesehen (Nickeleit et al. 2000; Brennan et al. 2005; Hirsch et al. 2013). Zudem werden der Ischämie- und Reperfusionsschaden sowie akute zelluläre und humorale Rejektionen der Transplantatnieren als wichtige pathogenetische Faktoren erachtet, da sowohl das Auftreten einer BKV-Virämie, als auch das Fortschreiten zur BKV-assoziierten Nephropathie fast ausschließlich auf Empfänger eines Nierentransplantats begrenzt sind und nach Transplantation anderer Organe eine Rarität darstellen (Limaye et al. 2005; Barber et al. 2006).

Es wird diskutiert, inwieweit der BKV-Serostatus von Spender und Empfänger oder sogar eine aktive BKV-Replikation im Spender zur Entwicklung der BKV-Virämie nach Nierentransplantation beiträgt (Bohl et al. 2005). Aufgrund der hohen Seroprävalenz und der Übertragung des in der Niere latenten BKV im Rahmen der Nierentransplantation ist eine Seropositivität für BKV beim Empfänger nach Nierentransplantation in der Regel anzunehmen (Hariharan et al. 2005; Sood et al. 2013; Schwarz et al. 2016). Eine Risikostratifizierung mittels BKV-Serologie wurde untersucht, findet jedoch aufgrund der unklaren Wirksamkeit der

neutralisierenden Antikörper und hohen Abhängigkeit vom BKV-Genotyp keine Anwendung (Sood et al. 2013; Abend et al 2017).

Als Standard zur Diagnostik und zum Monitoring der aktiven BKV-Infektion hat sich der Nachweis der BKV-Viruslast im Serum oder Vollblut mittels quantitativer Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion (PCR) etabliert (Babel et al. 2009; Agrawal et al. 2017). Sowohl der Nachweis von sogenannten Decoyzellen im Urin, bei denen es sich um zytomorphologisch durch BKV veränderte Tubulusepithel- und Urothelzellen handelt, als auch die quantitative Bestimmung der BKV-Viruslast im Urin haben keine darüber hinausgehende Bedeutung (Nickeleit et al. 2000; Randhawa et al. 2005). Aufgrund des Mangels internationaler Standardisierung und im Speziellen hoher inter- und intra-Assay Variabilität gibt es keinen Schwellenwert für die Diagnose einer BKV-assoziierten Nephropathie mittels BKV-Viruslast. Vielmehr ist im Rahmen des BKV-Monitorings die Kinetik der BKV-Viruslast als der Absolutwert von Bedeutung.

Der Goldstandard zur Diagnosesicherung der BKV-assoziierten Nephropathie erfolgt mittels Nierenbiopsie und histopathologischer Beurteilung. Hier zeigen sich typisch für die BKV-assoziierte Nephropathie zytomorphologische Veränderungen der Tubulusepithelzellen, die jedoch nicht pathognomonisch für die BKV-assoziierte Nephropathie sind, sondern auch im Rahmen anderer Virusinfektionen auftreten können. Neben intranukleären Viruseinschlusskörperchen zeigen sich diffuse, häufig polymorphonukleäre, tubulointerstitielle Infiltrate, die durch über die tubuläre Basalmembran eingewanderte Lymphozyten histomorphologisch schwer von einer akuten zellulären Rejektion abgegrenzt werden können.

Die histologische Differenzierung erfolgt hier durch den immunhistochemischen Nachweis virusinfizierter Tubulusepithelzellen durch die Polyomavirus-spezifische Simian-Virus-40 (SV40) Färbung sowie der Korrelation mit der BKV-Virämie. Beim Fortschreiten der BKV-assoziierten Nephropathie kommt es zum Auftreten von Nekrosen mit Zellverlust und Desquamation der Tubulusepithelzellen, Tubulusatrophie und Fibrosierung. Anhand der histologisch nachweisbaren Veränderungen erfolgte eine Klassifikation der BKV-assoziierten Nephropathie in die drei Stadien A bis C (Drachenberg et al. 1999; Drachenberg et al. 2001; Hirsch et al. 2002). Da die histomorphologischen Veränderungen der BKV-assoziierten Nephropathie zum Teil fokal auftreten, kann in etwa einem Drittel der durchgeführten Biopsien die Diagnose einer BKV-assoziierten Nephropathie nicht bestätigt werden. In solchen Fällen mit negativem histologischem Befund bei hochgradigem Verdacht aufgrund einer relevanten BKV-Virämie ggf. mit Funktionsverschlechterung des Nierentransplantats hat sich der Begriff „vermutete BKV-assoziierte Nephropathie“ (*presumptive BKV-associated nephropathy*) etabliert (Drachenberg et al. 2006).

Nach Nierentransplantation wird die Inzidenz der BKV-Virurie mit 20-60 %, die Inzidenz der BKV-Virämie mit 10-30 % und die Inzidenz der BKV-assoziierten Nephropathie mit 1-10 % aller Patienten angegeben (Hirsch et al. 2005). Etwa 75 % der aktiven BKV-Infektionen treten innerhalb des ersten Jahres nach Nierentransplantation auf, mit einem Häufigkeitsgipfel zwischen dem dritten und sechsten Monat nach Nierentransplantation (Babel et al. 2009). Klinisch manifestiert sich die BKV-assoziierte Nephropathie mit einem asymptomatischen langsamen Anstieg des Retentionsniveaus ohne Infektionszeichen. Andere Manifestationen einer BKV-Infektion stellen Raritäten dar.

Die präemptive Diagnostik der aktiven BKV-Infektion erfolgt analog zur aktiven CMV-Infektion durch ein engmaschiges Monitoring der BKV-Viruslast nach Nierentransplantation, um ein Fortschreiten zur BKV-assoziierten Nephropathie zu verhindern. Ein Grund für den hohen

Stellenwert der präemptiven Diagnostik ist das Fehlen einer effektiven antiviralen Therapie (Hirsch et al. 2002; Buerig et al. 2003; Brennan et al. 2005). Bei Nachweis einer erhöhten BKV-Viruslast erfolgt eine präemptive Therapie im Sinne einer Reduktion und/oder Modifikation der Erhaltungssimmunsuppression. In einem ersten Schritt wird der Antimetabolit Mycophenolat Mofetil reduziert oder für den Zeitraum der BKV-Replikation pausiert. In einem zweiten Schritt kann bei persistierender oder steigender BKV-Viruslast eine Umstellung der Erhaltungssimmunsuppression von Tacrolimus auf Cyclosporin und/oder von Mycophenolat Mofetil auf Azathioprin diskutiert werden (Hirsch et al. 2002; Brennan et al. 2005).

Bei vermuteter BKV-assoziiertes Nephropathie, ganz im Speziellen bei einer Funktionsverschlechterung der Transplantatniere, ist eine histopathologische und immunhistochemische Diagnosesicherung anzustreben. Bei gleichzeitigem Vorliegen einer akuten zellulären oder humoralen Rejektion steht die Abstoßungstherapie im Vordergrund.

Die Therapie der BKV-assoziiertes Nephropathie erfolgt meist in einem fließenden Übergang mit der präemptiven Therapie durch eine weitere schrittweise Reduktion und ggf. Modifikation der Erhaltungssimmunsuppression. Aufgrund fehlender randomisierter prospektiver Studien basieren die Therapiestrategien meist auf der Erfahrung des jeweiligen Transplantationszentrums. Neben der weiteren Dosisreduktion von Tacrolimus und Mycophenolat Mofetil haben sich vor allem eine Umstellung von Tacrolimus auf Cyclosporin, von Tacrolimus auf Sirolimus/Everolimus, von Mycophenolat Mofetil auf Azathioprin oder von Mycophenolat Mofetil auf Leflunomid durchgesetzt (Kasiske et al. 2010). Die präemptive Therapie und die Therapie der BKV-assoziiertes Nephropathie im Sinn der Reduktion der Erhaltungssimmunsuppression erfolgt bis zum zweimalig negativen Nachweis der BKV-Viruslast, wobei die Erhaltungssimmunsuppression im Anschluss nach individuellem Risiko wieder schrittweise erhöht wird (Celik et al. 2003; Vasudev et al. 2005).

Bei fehlendem Therapieansprechen im Sinne einer anhaltend erhöhten oder steigenden BKV-Viruslast oder zunehmender Verschlechterung der Transplantatnierenfunktion kann eine zusätzliche immunmodulierende und/oder antivirale Therapie versucht werden. Hierbei kommen vorrangig intravenöse Immunglobuline zum Einsatz, die zum einen BKV-neutralisierende Antikörper enthalten, zum anderen aber auch bei der häufig zeitgleich nachgewiesenen akuten zellulären und humoralen Rejektion eingesetzt werden können (Randhawa et al. 2015). Der Einsatz einer antiviralen Therapie mit Cidofovir wird aufgrund der vermutlich nur geringen Wirkung gegen BKV und der starken Nephrotoxizität äußerst zurückhaltend und nur nach Ausschöpfen anderer Therapiestrategien diskutiert. Neben dem neuen Virostatikum Brincidofovir, wurde auch vom Einsatz der adoptiven T-Zelltherapie mit BKV-spezifischen zytotoxischen T-Zellen in Einzelfällen berichtet (Pello et al. 2017).

#### 1.4 Immunologische Kontrolle latenter Virusinfektionen nach Nierentransplantation

Die Entwicklung einer antiviralen Immunität ist von zentraler Bedeutung bei der immunologischen Kontrolle latenter Virusinfektionen nach Nierentransplantation, um im Falle einer Reaktivierung eine rasche Viruselimination zu erreichen und ein Fortschreiten zur gewebeinvasiven Virusinfektion zu verhindern. Die Aktivierung virusspezifischer T- und B-Lymphozyten erfordert die Präsentation und Erkennung viraler Antigene durch antigenspezifische T- und B-Zell-Rezeptoren.

Mit Blick auf die Generierung einer antiviralen T-Zell-Immunität werden dabei drei Phasen unterschieden. Die erste Expansionsphase umfasst die starke Proliferation von solchen T-Zellen, deren T-Zell-Rezeptor spezifische virale Antigene erkennt. Hierbei bewirkt der T-Zell-Antigen-Kontakt die Einleitung zellulärer Prozesse, die neben der Proliferation auch die funktionelle Differenzierung der T-Zellen umfasst, sodass eine maximale Anzahl an antiviralen Effektor T-Zellen entstehen kann. Nach der Viruselimination schließt sich die zweite Kontraktionsphase an, in der sich die hohen Frequenzen virusspezifischer T-Zellen, reguliert durch verschiedene Zelltod-induzierende Moleküle, reduzieren und ein geringer Anteil als T-Gedächtniszellen überlebt. Die folgende dritte Erhaltungsphase ist durch die Teilung der T-Gedächtniszellen zum Ausgleich natürlicher Verluste (homöostatische Proliferation) charakterisiert, für die kein erneuter Antigenkontakt notwendig ist. Unter den T-Gedächtniszellen können durch Differenzierungsmarker zentrale und Effektor-T-Gedächtniszellen unterschieden werden. Hierbei wird besonders Effektor-T-Gedächtniszellen die Fähigkeit zugeschrieben, eine rasche protektive antivirale Immunität zu vermitteln. Die intermittierende Reexposition und Stimulation dieser Effektor-T-Gedächtniszellen im Rahmen latenter Virusinfektionen ist für die Aufrechterhaltung des Differenzierungsgrades sowie einer effektiven antiviralen Immunität notwendig (Braciale und Hahn 2013; Getts et al. 2013).

T-Zellen erkennen mit Viren infizierte Zellen durch den hochspezifischen T-Zell-Rezeptor, nachdem intrazellulär im Proteasom prozessierte Peptidfragmente spezifischer Virusantigene an *major histocompatibility complex* (MHC)-Moleküle der Klasse I gebunden und an der Zelloberfläche präsentiert werden. Die Aktivierung der T-Zellen erfordert neben dem Kontakt des T-Zell-Rezeptors mit dem Komplex aus MHC-Molekül und Viruspeptid zusätzliche kostimulatorische Signale über akzessorische Rezeptoren zwischen T-Zelle und antigenpräsentierender Zelle. Diese Aktivierungsprozesse führen zur Proliferation der T-Zellen und deren Differenzierung zu antiviralen Effektor-T-Zellen. CD4<sup>+</sup>-T-Zellen sezernieren hierbei vor allem Zytokine wie Interferon- $\gamma$ . Diese Zytokine bewirken eine Aktivierung der angeborenen Immunantwort, im Speziellen antiviraler Effektorfunktionen von Makrophagen und natürlichen Killerzellen, und führen zur Induktion intrazellulärer Effektormechanismen. CD8<sup>+</sup>-T-Zellen vermitteln die zytotoxische T-Zell-Funktion durch im Wesentlichen Perforin-induzierten Zelltod. Virusspezifische T-Zellen können somit in Abwesenheit von virusspezifischen Antikörpern eine protektive Wirkung gegenüber Viren vermitteln (Aoshi et al. 2011; Pulendran et al. 2013; Weist et al. 2014).

Die Aktivierung virusspezifischer B-Zellen erfolgt nach Kontakt membranständiger Antikörper (B-Zell-Rezeptor) mit Virusantigen und führt nach Internalisation und intrazellulärer Prozessierung zur Präsentation der Viruspeptide an der Zelloberfläche. Gebunden an MHC-Moleküle der Klasse II kommt es in Keimzentren sekundärer lymphatischer Organe (Keimzentrumsreaktion) durch die Stimulation von CD4<sup>+</sup>-T-Zellen zu weiteren Reifungsprozessen mit somatischer Hypermutation, Immunglobulin-Klassenwechsel und zur Differenzierung der aktivierten B-Zellen zu antikörpersezernierenden Plasmazellen und B-Gedächtniszellen (Baumgarth 2013).

Die antiviralen Effektorfunktionen von virusspezifischen Antikörpern umfassen die extrazelluläre Neutralisation, die Komplement-vermittelte Zerstörung und die durch Opsonierung-vermittelte Phagozytose der Viren. Virusspezifische B-Zellen sind somit in der Lage die Infektion von Zellen durch Viren zu verhindern, wobei bei bestehender latenter Infektion die protektive Wirkung der

antikörpervermittelten Immunität begrenzt ist (Braciale und Hahn 2013; Baumgarth 2013; Getts et al. 2013).

Durch die Induktions- und Erhaltungssimmunsuppression nach Nierentransplantation ist vor allem der wichtigste Vorgang der antiviralen Immunität, die MHC Klasse I-vermittelte Antigenpräsentation und die daraus resultierende T-Zell-Proliferation und Differenzierung, gestört. Dies führt zu einer erhöhten Inzidenz an Reaktivierungen latenter Virusinfektionen, schweren Verläufen an Primärinfektionen sowie Fortschreiten zu gewebeinvasiven Virusinfektionen mit erhöhter Mortalität und Morbidität.

### 1.5 Herausforderungen an Biomarker zur Risikostratifizierung von Virusinfektionen nach Nierentransplantation

Die *Biomarkers Definitions Working Group* definiert einen Biomarker wie folgt:

*„[A biomarker is] a characteristic that is objectively measured and evaluated as an indicator of normal biologic processes, pathogenic processes, or pharmacologic responses to a therapeutic intervention.“* (Biomarkers Definitions Working Group 2001).

Als Biomarker können hierbei Zellen, spezifische Zellmerkmale, Gene und Genprodukte sowie jegliche Formen molekularer Strukturen und komplexe physiologische oder biochemische Prozesse verwendet werden. Der Biomarker dient dabei als Surrogat-Endpunkt für einen klinischen Endpunkt, *„a characteristic or variable that reflects how a patient feels or functions, or how long a patient survives“* (Biomarkers Definitions Working Group 2001). Ziel ist es, durch diesen Surrogat-Endpunkt den klinischen Nutzen, Schaden oder das Fehlen von Nutzen oder Schaden vorhersagen zu können. Als Grundlage werden epidemiologische, therapeutische, pathophysiologische oder andere wissenschaftliche Evidenzen herangezogen (Biomarkers Definitions Working Group 2001). Der Biomarker kann hierbei zur Risikostratifizierung für das Vorhandensein oder die Schwere einer Erkrankung als diagnostischer Biomarker oder den Verlauf einer Erkrankung als prognostischer Biomarker beitragen.

Im konkreten Fall hängt der Erfolg der Nierentransplantation maßgeblich vom Einsatz potenter Immunsuppressiva ab, weshalb infektiöse Komplikationen und vor allem Virusinfektionen weiterhin entscheidend das Patienten- und Nierentransplantatüberleben beeinflussen. Trotz der Empfehlung und Etablierung eines engmaschigen Screenings der CMV- und BKV-Viruslast im Rahmen prophylaktischer und präemptiver Therapiestrategien (Kasiske et al. 2010), gelingt die Diagnose einer aktiven CMV- und BKV-Infektion häufig erst beim Auftreten klinischer Symptome oder laborchemischer Veränderungen. Aufgrund der häufig späten Diagnosestellung und Therapieeinleitung droht daher nicht selten ein schwerer Verlauf der Virusinfektion, der vor dem Hintergrund limitierter Therapieoptionen und daraus resultierender Komplikationen im Sinne von gewebeinvasiven Erkrankungen und Abstoßungsreaktionen das Patientenüberleben und die Langzeitfunktion des Nierentransplantats gefährdet.

Deshalb werden zuverlässige und praktikable Biomarker gesucht, die als Ergänzung zur Bestimmung der Viruslast eine bessere Risikostratifizierung symptomfreier Patienten, eine bessere Prognoseeinschätzung und eine bessere Individualisierung der Therapie ermöglichen. Die Etablierung von Biomarkern zur Risikostratifizierung von Virusinfektionen nach Nierentransplantation ist hierbei noch in den Anfängen. Es werden weitere prospektive Studien

benötigt, die das Potenzial dieser Biomarker evaluieren. Hierbei ist die Untersuchung der protektiven virusspezifischen T-Zellimmunität durch die Etablierung und Validierung des Interferon- $\gamma$  detektierenden ELISpot Assays möglich geworden und erlaubt zudem die Quantifizierung von virusspezifischen Gedächtnis-T-Zellen.

Der Nutzen des Nachweises virusspezifischer Gedächtnis-T-Zellen als Biomarker zur Risikostratifizierung der aktiven CMV- und BKV-Infektion nach Nierentransplantation wird in nachfolgenden Arbeiten analysiert. Die Arbeiten erörtern folgende Fragestellungen:

- (1) Inwiefern kann der Nachweis virusspezifischer Gedächtnis-T-Zellen als diagnostischer Biomarker genutzt werden, um symptomfreie Risikopatienten für eine aktive Virusreplikation rechtzeitig und zuverlässig zu identifizieren?
- (2) Inwiefern kann der Nachweis virusspezifischer Gedächtnis-T-Zellen als prognostischer Biomarker genutzt werden, um bei Patienten mit aktiver Virusreplikation das Risiko für einen drohenden schweren Verlauf mit Fortschreiten zu einer gewebeinvasiven Erkrankung abzuschätzen?

## 2. Methoden und Ergebnisse eigener Arbeiten

### 2.1 Aktive CMV-Infektion und gewebeinvasive CMV-Erkrankung bei Patienten nach Nieren- und kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation

Thomas Schachtner, Marina Zaks, Natalie M. Otto, Andreas Kahl, Petra Reinke. *Simultaneous pancreas/kidney transplant recipients are predisposed to tissue-invasive cytomegalovirus disease and concomitant infectious complications*. Transplant Infectious Disease, 2017; e12742.

Impact Factor: 1,719

Veröffentlicht als Kongressabstract [adaptiert]: Thomas Schachtner, Marina Zaks, Andreas Kahl, Petra Reinke. *Simultaneous Pancreas/Kidney Transplant Recipients Are Predisposed to Symptomatic CMV-Infection and Concomitant Infectious Complications*. American Journal of Transplantation, 2017; 17 (Supplement 3).

#### **Hintergrund:**

Die aktive CMV-Infektion tritt überwiegend innerhalb des ersten Jahres nach Nierentransplantation auf, wobei etwa die Hälfte der Fälle asymptomatisch verläuft und die andere Hälfte zur gewebeinvasiven CMV-Erkrankung fortschreitet. Risikofaktoren für das Auftreten einer aktiven CMV-Infektion sind fehlende HLA-Übereinstimmung sowie Art und Stärke der Immunsuppression. Diese Risikofaktoren unterscheiden sich stark zwischen Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation und alleiniger Nierentransplantation.

#### **Fragestellung:**

- (1) Bestehen Unterschiede im Hinblick auf Inzidenz, zeitlichem Auftreten und Risikofaktoren der aktiven CMV-Infektion zwischen Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation und Patienten nach alleiniger Nierentransplantation?
- (2) Bestehen Unterschiede im Hinblick auf Schwere und Verlauf der aktiven CMV-Infektion zwischen Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation und Patienten nach alleiniger Nierentransplantation?
- (3) Bestehen Unterschiede im Hinblick auf Nierentransplantatüberleben und -funktion zwischen Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation mit und ohne aktive CMV-Infektion?

#### **Patienten und Methodik:**

- Querschnittstudie bei 21 Empfängern einer ersten kombinierten Nieren-/Pankreastransplantation mit aktiver CMV-Infektion, 41 Empfängern einer ersten kombinierten Nieren-/Pankreastransplantation ohne Nachweis einer aktiven CMV-Infektion und 90 Empfängern einer ersten Nierentransplantation mit aktiver CMV-Infektion
- Auswertung epidemiologischer und demografischer Faktoren und Überlebensanalysen



## Ergebnisse:

- (1) Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation haben eine erhöhte Inzidenz aktiver CMV-Infektionen als Patienten nach alleiniger Nierentransplantation. CMV-seronegative Empfänger eines CMV-seropositiven Spenderorgans und solche mit fehlender Übereinstimmung der HLA-B- und -DR-Antigene haben ein erhöhtes Risiko für aktive CMV-Infektionen nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation.
- (2) Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation zeigen einen schwereren Verlauf aktiver CMV-Infektionen mit Fortschreiten zur gewebeinvasiven CMV-Erkrankung, höherer maximaler CMV-Viruslast und häufiger wiederholtem Auftreten einer aktiven CMV-Infektion als Patienten nach alleiniger Nierentransplantation.
- (3) Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation mit aktiver CMV-Infektion haben ein vergleichbares Patienten-, Nierentransplantat- und Pankreastransplantat-überleben wie Patienten ohne aktive CMV-Infektion. Erstere entwickeln jedoch häufiger eine aktive EBV- und BKV-Infektion.

Thomas Schachtner, Marina Zaks, Natalie M. Otto, Andreas Kahl, Petra Reinke. *Simultaneous pancreas/kidney transplant recipients are predisposed to tissue-invasive cytomegalovirus disease and concomitant infectious complications*. *Transplant Infectious Disease*, 2017; e12742.

<http://dx.doi.org/10.1111/tid.12742>

















## 2.2 Polyomavirus BK-assoziierte Nephropathie bei Patienten nach Nieren- und kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation

Thomas Schachtner, Marina Zaks, Andreas Kahl, Petra Reinke. *Simultaneous Pancreas/Kidney Transplantation Presents with Late-onset BKV-associated Nephropathy*. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2016; 31: 1174-1182.

Impact Factor: 4,47

Veröffentlicht als Kongressabstract [adaptiert]: Thomas Schachtner, Marina Zaks, Andreas Kahl, Petra Reinke. *Simultaneous Pancreas/Kidney Transplantation Increases the Risk of Late-Onset BKV-Associated Nephropathy*. *American Journal of Transplantation*, 2016; 16 (Supplement 3).

### **Hintergrund:**

Die BKV-assoziierte Nephropathie tritt nahezu nur nach Nierentransplantation auf. Die Risikofaktoren für das Auftreten einer BKV-assoziierten Nephropathie, wie Empfänger- und Spenderalter, HLA-Übereinstimmung, Art und Stärke der Immunsuppression, unterscheiden sich dabei stark zwischen Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation und Patienten nach alleiniger Nierentransplantation.

### **Fragestellung:**

- (1) Bestehen Unterschiede im Hinblick auf Inzidenz, zeitlichem Auftreten und Risikofaktoren der BKV-assoziierten Nephropathie zwischen Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation und Patienten nach alleiniger Nierentransplantation?
- (2) Bestehen Unterschiede im Hinblick auf Schwere und Verlauf der BKV-Infektion zwischen Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation und Patienten nach alleiniger Nierentransplantation?
- (3) Bestehen es Unterschiede im Hinblick auf Nierentransplantatüberleben und -funktion zwischen Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation mit und ohne BKV-assoziierte Nephropathie?

### **Patienten und Methodik:**

- Querschnittstudie bei 11 Empfängern einer ersten kombinierten Nieren-/Pankreastransplantation mit BKV-assoziiierter Nephropathie, 95 Empfängern einer ersten kombinierten Nieren-/Pankreastransplantation ohne Nachweis einer aktiven BKV-Infektion und 21 Empfängern einer ersten Nierentransplantation mit BKV-assoziiierter Nephropathie
- Auswertung epidemiologischer und demografischer Faktoren und Überlebensanalysen

## Ergebnisse:

- (1) Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation haben eine erhöhte Inzidenz und ein zeitlich späteres Auftreten der BKV-assoziierten Nephropathie im Vergleich mit Patienten nach alleiniger Nierentransplantation. Alter und männliches Geschlecht erhöhen das Risiko, nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation eine BKV-assoziierte Nephropathie zu entwickeln.
- (2) Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation zeigen einen schwereren Verlauf der BKV-assoziierten Nephropathie mit höherer maximaler BKV-Viruslast, Notwendigkeit intensiverer Therapie und seltenerer vollständiger Regeneration der Nierentransplantatfunktion als Patienten nach alleiniger Nierentransplantation.
- (3) Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation mit BKV-assoziiierter Nephropathie haben eine schlechtere Nierentransplantatfunktion als Patienten ohne BKV-assoziierte Nephropathie und entwickeln häufiger *de novo* donorspezifische HLA-Antikörper.

Thomas Schachtner, Marina Zaks, Andreas Kahl, Petra Reinke. *Simultaneous Pancreas/Kidney Transplantation Presents with Late-onset BKV-associated Nephropathy*. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2016; 31: 1174-1182.

<http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfv441>



















### 2.3 Risikofaktoren der Polyomavirus BK-assoziierten Nephropathie in der frühen und späten Phase nach Nierentransplantation

Thomas Schachtner, Nina Babel, Petra Reinke. *Different Risk Profiles Characterize Patients with Early- and Late-onset BKV-replication*. Transplant International 2015; 28: 1081-1091.

Impact Factor: 2,835

#### **Hintergrund:**

Die BK-Virämie bzw. BKV-assoziierte Nephropathie nach Nierentransplantation tritt meist früh, innerhalb der ersten sechs Monate nach Nierentransplantation auf. In seltenen Fällen kommt es auch in einer späteren Phase nach Nierentransplantation zur BKV-Virämie und zum Fortschreiten zu einer BKV-assoziierten Nephropathie.

#### **Fragestellung:**

- (1) Welche Risikofaktoren prädisponieren Patienten nach Nierentransplantation zur Entwicklung einer frühen und späten BKV-Virämie bzw. BKV-assoziierten Nephropathie?
- (2) Bestehen Unterschiede im Hinblick auf Schwere und Verlauf der BKV-Infektion zwischen Patienten mit früher und später BKV-Virämie bzw. BKV-assoziiertes Nephropathie?
- (3) Bestehen Unterschiede im Hinblick auf Nierentransplantatüberleben und -funktion zwischen Patienten mit früher und später BKV-Virämie bzw. BKV-assoziiertes Nephropathie?

#### **Patienten und Methodik:**

- Querschnittstudie bei 103 Empfängern einer Nierentransplantation mit aktiver BKV-Infektion und 598 Empfängern einer Nierentransplantation ohne Nachweis für eine aktive BKV-Infektion
  - a) Aufteilung der 103 Patienten mit aktiver BKV-Infektion in 24 Patienten mit BKV-assoziiertes Nephropathie und 79 Patienten mit transiente BKV-Virämie ohne BKV-assoziiertes Nephropathie
  - b) Aufteilung der 103 Patienten mit aktiver BKV-Infektion in 67 Patienten mit früher aktiver BKV-Infektion (<6 Monate nach Transplantation) und 36 Patienten mit später aktiver BKV-Infektion (>6 Monate nach Transplantation)
- Auswertung epidemiologischer und demografischer Faktoren und Überlebensanalysen

#### **Ergebnisse:**

- (1) Die wichtigsten Risikofaktoren für die Entwicklung einer frühen BKV-Virämie bzw. BKV-assoziiertes Nephropathie sind der Einsatz von Lymphozyten-depletierenden Antikörpern, das Auftreten von aktiven CMV-Infektionen und akuten zellulären Rejektionen. Präsensibilisierte Patienten vor Retransplantation der Niere haben das

höchste Risiko für die Entwicklung einer späten BKV-Virämie bzw. BKV-assoziierten Nephropathie.

- (2) Im Hinblick auf den Verlauf der BKV-Virämie gibt es keine Unterschiede zwischen Patienten mit früher und später BKV-Virämie bzw. BKV-assoziiierter Nephropathie. Patienten mit später BKV-Virämie zeigen jedoch seltener eine vollständige Regeneration der Nierentransplantatfunktion im Vergleich zu Patienten mit früher BKV-Virämie.
- (3) Im Hinblick auf Nierentransplantatüberleben und -funktion lassen sich keine Unterschiede zwischen Patienten mit früher und später BKV-Virämie bzw. BKV-assoziiierter Nephropathie feststellen. Patienten mit Entwicklung einer BKV-assoziierten Nephropathie zeigen einen progredienten Abfall der Nierentransplantatfunktion gegenüber Patienten mit transienter BKV-Virämie.

Thomas Schachtner, Nina Babel, Petra Reinke. *Different Risk Profiles Characterize Patients with Early- and Late-onset BKV-replication*. Transplant International 2015; 28: 1081-1091.

<http://dx.doi.org/10.1111/tri.12601>

























## 2.4 Kinetik der CMV-spezifischen zellulären Immunität zur Risikostratifizierung der aktiven CMV-Infektion bei CMV-seronegativen Empfängern einer Nierentransplantation

Thomas Schachtner, Maik Stein, Petra Reinke. *CMV-specific T Cell Monitoring Offers Superior Risk Stratification of CMV-seronegative Kidney Transplant Recipients of a CMV-seropositive Donor.* Transplantation 2017; e1285.

Impact Factor: 3,690

Veröffentlicht als Kongressabstract [adaptiert]: Thomas Schachtner, Maik Stein, Petra Reinke. *The Presence of CMV-Specific T-Cells in CMV-Seronegative Kidney Transplant Recipients Predicts Outcome After Kidney Transplantation.* American Journal of Transplantation, 2016; 16 (Supplement 3).

### **Hintergrund:**

Ein Defekt der CMV-spezifischen T-Zellantwort kann die Ursache für schwere gewebeinvasive CMV-Erkrankungen sowie häufig rezidivierende oder persistierende aktive CMV-Infektionen sein. Die CMV-spezifischen T-Zellen richten sich hierbei gegen die CMV-spezifischen Nichtstrukturproteine *immediate early protein 1 und 2 (IE1/IE2)* und das CMV-spezifische Strukturprotein *phosphoprotein 65 (pp65)*. Besonders CMV-seronegative Empfänger eines CMV-seropositiven Spenderorgans entwickeln gehäuft eine aktive CMV-Infektion, die nicht selten zur gewebeinvasiven CMV-Erkrankung fortschreitet.

### **Fragestellung:**

- (1) Lassen sich bei CMV-seronegativen Patienten vor Transplantation CMV-spezifische T-Zellen nachweisen, die eine weitergehende Risikostratifizierung ermöglichen?
- (2) Welchen Einfluss hat die Kinetik der CMV-spezifischen T-Zell-Immunität auf die Entwicklung der CMV-Virämie und CMV-Erkrankung bei CMV-seronegativen und CMV-seropositiven Empfängern eines Nierentransplantats?
- (3) Welchen Einfluss hat die Kinetik der CMV-spezifischen T-Zell-Immunität auf die Schwere der aktiven CMV-Infektion, Nierentransplantatüberleben und -funktion?

### **Patienten und Methodik:**

- Längsschnittstudie bei 326 Empfängern eines ersten Nierentransplantats zum Zeitpunkt der Transplantation, +1 Monat, +2 Monate und +3 Monate nach Transplantation
- Qualitative Bestimmung CMV-spezifischer Immunglobulin G-Antikörper mittels Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) zum Zeitpunkt der Transplantation
- Quantifizierung der CMV-Viruslast im Serum mittels quantitativer Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion zum Zeitpunkt der Transplantation, +1 Monat, +2 Monate, +3 Monate, danach dreimonatlich und bei klinischem Verdacht auf eine aktive CMV-Infektion

- Quantifizierung der Interferon- $\gamma$  sezernierenden CMV-spezifischen T-Zellen gegen die CMV-spezifischen Antigene pp65 und IE1 mittels ELISpot Assay zu allen Studienzeitpunkten
- Auswertung epidemiologischer und demografischer Faktoren und Überlebensanalysen

### **Ergebnisse:**

- (1) 28 % der CMV-seronegativen Empfänger haben vor Transplantation nachweisbare CMV-spezifische T-Zellen gegen die CMV-spezifischen Antigene pp65 und/oder IE1.
- (2) Die Kinetik der CMV-spezifischen T-Zellen ermöglicht eine Risikostratifizierung der CMV-Virämie nach Nierentransplantation bei CMV-seronegativen und CMV-seropositiven Empfängern: (a) Patienten mit Nachweis CMV-spezifischer T-Zellen gegen das Nichtstrukturprotein IE1 vor und nach Transplantation oder solche, die CMV-spezifische T-Zellen gegen das Nichtstrukturprotein IE1 nach Transplantation entwickeln, haben ein geringes Risiko für eine CMV-Virämie. (b) Patienten ohne Nachweis CMV-spezifischer T-Zellen gegen das Nichtstrukturprotein IE1 vor und nach Transplantation oder solche, die CMV-spezifische T-Zellen gegen das Nichtstrukturprotein IE1 nach Transplantation verlieren, haben ein erhöhtes Risiko für eine CMV-Virämie.
- (3) Patienten ohne Nachweis CMV-spezifischer T-Zellen vor Transplantation zeigen einen schwereren Verlauf der aktiven CMV-Infektion mit mehr gewebeinvasiver CMV-Erkrankung und höherer maximaler CMV-Viruslast.

Thomas Schachtner, Maik Stein, Petra Reinke. *CMV-specific T Cell Monitoring Offers Superior Risk Stratification of CMV-seronegative Kidney Transplant Recipients of a CMV-seropositive Donor*. *Transplantation* 2017; e315-e325.

<http://dx.doi.org/10.1097/TP.0000000000001825>























## 2.5 Kinetik der BKV-spezifischen zellulären Immunität zur Risikostratifizierung der aktiven BKV-Infektion nach Nierentransplantation

Thomas Schachtner, Maik Stein, Nina Babel, Petra Reinke. *The Loss of BKV-specific Immunity From Pretransplantation to Posttransplantation Identifies Kidney Transplant Recipients at Increased Risk of BKV Replication.* American Journal of Transplantation 2015; 15: 2159-2169.

Impact Factor: 5,683

Veröffentlicht als Kongressabstract [adaptiert]: Thomas Schachtner, Maik Stein, Petra Reinke. *Immune monitoring in BK Virus nephropathy: How to identify recipients at the highest risk.* American Journal of Transplantation, 2014; 14 (Supplement 3).

### **Hintergrund:**

Bei latenten Virusinfektionen baut sich in der Regel eine hochspezifische Immunantwort zur effektiven Kontrolle der Virusreplikation auf. Diagnostisch lässt sich diese BKV-spezifische zelluläre Immunantwort quantitativ analysieren. Der Einsatz der Induktions- und Erhaltungssimmunsuppression bei Nierentransplantation hat dabei einen unmittelbaren Einfluss auf den Erhalt und die Entwicklung der protektiven BKV-spezifischen Immunität.

### **Fragestellung:**

- (1) Welchen Stellenwert hat die Charakterisierung der BKV-spezifischen zellulären Immunität vor Nierentransplantation für die Risikostratifizierung der BKV-Virämie bzw. BKV-assoziierten Nephropathie?
- (2) Welchen Stellenwert hat die Kinetik der BKV-spezifischen zellulären Immunität für die Risikostratifizierung der BKV-Virämie bzw. BKV-assoziierten Nephropathie?
- (3) Welcher Zusammenhang besteht zwischen donorspezifischer zellulärer Immunität und der Entwicklung der BKV-Virämie bzw. BKV-assoziierten Nephropathie?

### **Patienten und Methodik:**

- Längsschnittstudie bei 151 Empfängern eines ersten Nierentransplantats zum Zeitpunkt der Transplantation, +1 Monat, +2 Monate und +3 Monate nach Transplantation
- Quantifizierung der BKV-Viruslast im Serum mittels quantitativer Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion zum Zeitpunkt der Transplantation, +1 Monat, +2 Monate, +3 Monate, +6 Monate, +12 Monate, danach jährlich und bei klinischem Verdacht auf eine aktive BKV-Infektion
- Quantifizierung der Interferon- $\gamma$  sezernierenden BKV-spezifischen T-Zellen gegen die BKV-spezifischen Antigene VP1 und *large tumor-antigen* durch den ELISpot Assay zu allen Studienzeitpunkten
- Quantifizierung der Interferon- $\gamma$  sezernierenden donorspezifischen T-Zellen nach Stimulation mit Spenderantigen mittels ELISpot Assay zu allen Studienzeitpunkten
- Auswertung epidemiologischer und demografischer Faktoren

### **Ergebnisse:**

- (1) Der Nachweis BKV-spezifischer T-Zellen gegen Struktur- und Nichtstrukturproteine vor Nierentransplantation ist für die Risikostratifizierung der BKV-Virämie bzw. BKV-assoziierten Nephropathie nicht geeignet.
- (2) Die Kinetik der BKV-spezifischen T-Zellen gegen Struktur- und Nichtstrukturproteine ermöglicht eine Risikostratifizierung der BKV-Virämie nach Nierentransplantation:  
(a) Patienten mit Nachweis BKV-spezifischer T-Zellen vor und nach Transplantation oder solche, die BKV-spezifische T-Zellen nach Transplantation entwickeln, haben ein geringes Risiko für eine BKV-Virämie. (b) Patienten ohne Nachweis BKV-spezifischer T-Zellen vor und nach Transplantation oder solche, die BKV-spezifische T-Zellen nach Transplantation verlieren, haben ein erhöhtes Risiko für eine BKV-Virämie.
- (3) Patienten, die nach Nierentransplantation eine BKV-Virämie bzw. BKV-assoziierte Nephropathie entwickeln, zeigen nach Transplantation erhöhte Frequenzen donorspezifischer T-Zellen.



Thomas Schachtner, Maik Stein, Nina Babel, Petra Reinke. *The Loss of BKV-specific Immunity From Pretransplantation to Posttransplantation Identifies Kidney Transplant Recipients at Increased Risk of BKV Replication*. American Journal of Transplantation 2015; 15: 2159-2169.

<http://dx.doi.org/10.1111/ajt.13252>























## 2.6 Kinetik der BKV-spezifischen zellulären Immunität bei selbstlimitierender aktiver BKV-Infektion nach Nierentransplantation

Thomas Schachtner, Maik Stein, Anett Sefrin, Nina Babel, Petra Reinke. *Inflammatory Activation and Recovering BKV-specific Immunity Characterize Patients with Self-limited BKV-reactivation*. Transplant International 2014; 27: 290-301.

Impact Factor: 2,599

Veröffentlicht als Kongressabstract [adaptiert]: Thomas Schachtner, Karin Müller, Maik Stein, Claudia Diezemann, Christa Liebenthal, Evelyn Lieske, Anett Sefrin, Nina Babel, Petra Reinke. *Kinetics of Polyomavirus BK-Specific Humoral and Cellular Immunity in the First Year after Kidney Transplantation Correlate with Intensity of BKV-Infection*. American Journal of Transplantation, 2010; 10 (Supplement 4).

### **Hintergrund:**

Die Entwicklung einer BKV-spezifischen zellulären Immunität ist für die effektive Kontrolle der aktiven und latenten BKV-Infektion notwendig. Die BKV-spezifischen T-Zellen richten sich hierbei gegen die BKV-spezifischen Strukturproteine VP1, VP2 und VP3 sowie die BKV-spezifischen Nichtstrukturproteine *small tumor-antigen* und *large tumor-antigen*.

### **Fragestellung:**

- (1) Welche Bedeutung haben die fünf verschiedenen BKV-spezifischen Antigene für die Entwicklung der BKV-spezifischen Immunität nach Nierentransplantation?
- (2) Wie ist die Kinetik der BKV-spezifischen Immunität bei BKV-seropositiven Patienten mit BKV-Virämie nach Nierentransplantation charakterisiert?
- (3) Wie ist die Kinetik der BKV-spezifischen Immunität bei BKV-seropositiven Patienten ohne BKV-Virämie nach Nierentransplantation charakterisiert?

### **Patienten und Methodik:**

- Längsschnittstudie bei 29 BKV-seropositiven Empfängern eines ersten Nierentransplantats zu den Zeitpunkten +1 Woche, +1 Monat, +2 Monate, +3 Monate, +6 Monate, +9 Monate und +12 Monate nach Transplantation
- Bestimmung BKV-spezifischer Immunglobulin M- und Immunglobulin G-Antikörper mittels Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) zu allen Studienzeitpunkten
- Quantifizierung der BKV-Viruslast in Serum und Urin mittels quantitativer Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion zu allen Studienzeitpunkten
- Quantifizierung der Interferon- $\gamma$  sezernierenden BKV-spezifischen T-Zellen gegen die BKV-spezifischen Antigene VP1, VP2, VP3, *small tumor-* und *large tumor-antigen* mittels ELISPot Assay zu allen Studienzeitpunkten
- Auswertung epidemiologischer und demografischer Faktoren

## Ergebnisse:

- (1) Im Rahmen einer BKV-Virämie lassen sich BKV-spezifische T-Zellen gegen alle fünf BKV-spezifischen Antigene nachweisen. Patienten mit BKV-Virämie zeigen höhere Frequenzen BKV-spezifischer T-Zellen gegen BKV-spezifische Strukturproteine als Patienten ohne BKV-Virämie. Die Frequenzen BKV-spezifischer T-Zellen gegen das Strukturprotein VP1 sind höher als gegen die Strukturproteine VP2 und VP3. Die Frequenzen BKV-spezifischer T-Zellen gegen das Nichtstrukturprotein *large tumor-antigen* sind höher als gegen das Nichtstrukturprotein *small tumor-antigen*.
- (2) Patienten, die eine BKV-Virämie entwickeln, zeigen zu Beginn der BKV-Virämie niedrige oder nicht nachweisbare Frequenzen BKV-spezifischer T-Zellen. Patienten mit transienter BKV-Virämie entwickeln eine BKV-spezifische T-Zellantwort gegen Struktur- und Nichtstrukturproteine. Patienten, die im Rahmen der BKV-Virämie keine BKV-spezifischen T-Zellen entwickeln, zeigten ein Fortschreiten der BKV-Virämie mit Entwicklung einer BKV-assoziierten Nephropathie.
- (3) Die Mehrheit der Patienten ohne BKV-Virämie zeigt nach Nierentransplantation zumindest einen transienten Anstieg BKV-spezifischer T-Zellen. Im Vergleich zu Patienten mit BKV-Virämie sind die BKV-spezifischen T-Zellen hauptsächlich gegen die Nichtstrukturproteine gerichtet.

Thomas Schachtner, Maik Stein, Anett Sefrin, Nina Babel, Petra Reinke. *Inflammatory Activation and Recovering BKV-specific Immunity Characterize Patients with Self-limited BKV-reactivation*. *Transplant International* 2014; 27: 290-301.

<http://dx.doi.org/10.1111/tri.12251>



























### **3. Diskussion**

Die Primärinfektion und die Reaktivierung der latenten Infektion mit CMV und BKV stellen eine schwere Komplikation nach Nierentransplantation und einen entscheidenden Risikofaktor für eine verminderte Langzeitfunktion des Nierentransplantats dar (Martin-Gandul et al. 2015; Kaminski et al. 2016; Lollinga et al. 2017). Während die aktive CMV-Infektion durch Zytokin-vermittelte *bystander*-Effekte und hochregulierte HLA-Antigene mit einer erhöhten Inzidenz akuter Abstoßungsreaktionen assoziiert ist und durch immunpathologische Phänomene mit Immundepression zu weiteren viralen, bakteriellen und fungalen Koinfektionen prädisponiert (Reinke et al. 1994; Kern et al. 1996; Reinke et al. 1999), kommt es bei der aktiven BKV-Infektion mit Fortschreiten zur BKV-assoziierten Nephropathie zu tubulointerstitieller Nephritis mit Tubulusatrophie und Fibrosierung (Hirsch et al. 2002). Bei beiden Virusinfektionen ist durch die therapeutische Reduktion der Erhaltungssimmunsuppression das Risiko für das Auftreten akuter zellulärer und humoraler Abstoßungsreaktionen erhöht (Reinke et al. 1999; Sawinski et al. 2015). Die Beurteilung epidemiologischer und demografischer Faktoren ermöglicht eine allgemeine Risikostratifizierung, die im Speziellen für die Entscheidung zur prophylaktischen oder präemptiven Therapiestrategie und für die Einschätzung der Dichte des Viruslastscreenings genutzt wird. Zusammengefasst widmen sich die vorliegenden Arbeiten folgenden Fragen:

(1) Welche Faktoren prädisponieren Patienten nach Nierentransplantation zum Auftreten einer aktiven CMV- oder BKV-Infektion? (2) Welche Faktoren prädisponieren Patienten nach Nierentransplantation zum Fortschreiten der aktiven CMV- und BKV-Infektion zur gewebeinvasiven Erkrankung? (3) Welche Unterschiede der aktiven CMV- und BKV-Infektion gibt es zwischen Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation und Patienten nach alleiniger Nierentransplantation?

Zudem gilt der Nachweis einer virusspezifischen T-Zellimmunität als Voraussetzung für die effektive Kontrolle der aktiven und latenten CMV- und BKV-Infektion, die eine individuelle Risikostratifizierung ermöglichen kann (Bunde et al. 2005; Mueller et al. 2010; Schachtner et al. 2011). Übergeordnet setzen sich die vorliegenden Arbeiten mit folgenden Fragestellungen auseinander: (1) Welchen Stellenwert hat die Charakterisierung der virusspezifischen zellulären Immunität als diagnostischer Biomarker für das Auftreten einer aktiven CMV- oder BKV-Infektion? (2) Welchen Stellenwert hat die Charakterisierung der virusspezifischen zellulären Immunität als prognostischer Biomarker für das Fortschreiten zur gewebeinvasiven Erkrankung?

#### **3.1 Risikostratifizierung von Virusinfektionen nach Nierentransplantation durch epidemiologische und demografische Faktoren**

##### *Risikostratifizierung für die Entwicklung einer aktiven CMV-Infektion*

Für CMV-seronegative Empfänger, die ein CMV-seropositives Spenderorgan erhalten, besteht das höchste Risiko nach Nierentransplantation eine aktive CMV-Infektion zu entwickeln (Razonable et al. 2013; Schachtner und Reinke 2016a). Hierbei scheint die fehlende protektive CMV-spezifische Immunität von zentraler Bedeutung zu sein, weshalb es nach Absetzen der CMV-Prophylaxe in bis zu 50 % der Patienten zur aktiven CMV-Infektion kommt (Humar A et al. 2010). Zudem ist eine erhöhte Inzidenz aktiver CMV-Infektionen bei Patienten mit fehlender

Übereinstimmung der HLA-DR-Antigene der HLA-Klasse-II beschrieben (Schnitzler et al. 2003). Letztere wird auch durch die vorliegenden Arbeiten bestätigt.

Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation zeigen schwerere Verläufe einer aktiven CMV-Infektion als Patienten nach alleiniger Nierentransplantation. Dies spiegelt sich in einer höheren Inzidenz gewebeinvasiver CMV-Erkrankungen, insbesondere CMV-Pneumonien, vermehrter Rekurrenz aktiver CMV-Infektionen, höherer maximaler CMV-Viruslast und damit assoziiert häufigerem Gebrauch intravenöser antiviraler Therapie mit Ganciclovir wieder. Bemerkenswerterweise entwickeln CMV-seronegative Empfänger eines CMV-seropositiven Spenders trotz CMV-Prophylaxe nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation häufiger eine aktive CMV-Infektion als nach alleiniger Nierentransplantation.

Die schweren Verläufe aktiver CMV-Infektionen nach kombinierter Nieren/Pankreastransplantation lassen sich zum einen mit der Anwendung T-Zell-depletierender Induktions- und Rejektionstherapie erklären (Schachtner et al. 2015c; Schachtner et al. 2016b; Schachtner et al. 2016c). Zum anderen kann das Fortschreiten zur gewebeinvasiven CMV-Erkrankung durch eine geringere Reduktion der Immunsuppression zum Schutz vor akuten Abstoßungsreaktionen des Pankreastransplantats begünstigt werden.

Das Risiko für das Fortschreiten der aktiven CMV-Infektion zur gewebeinvasiven CMV-Erkrankung lässt sich durch epidemiologische und demografische Faktoren nicht abschätzen.

#### *Risikostratifizierung für die Entwicklung einer aktiven BKV-Infektion*

Der Gebrauch T-Zell-depletierender Induktionsimmunsuppression, schlechte HLA-Übereinstimmung, aktive CMV-Infektionen und akute zelluläre Abstoßungsreaktionen sind wichtige Risikofaktoren für die Entwicklung einer aktiven BKV-Infektion in den ersten sechs Monaten nach Nierentransplantation (Awadalla et al. 2004). Diese Beobachtungen werden durch die vorliegenden Arbeiten unterstützt, die in der Stärke der Immunsuppression die wesentliche Ursache für die steigende Inzidenz der BKV-Replikation sehen (Schachtner et al. 2015c). Die hohe Inzidenz der simultanen CMV-Replikation kann durch CMV-assoziierte immunpathologische Phänomene mit Neutropenie, erhöhter Inzidenz akuter zellulärer Abstoßungsreaktionen und CMV-assoziiierter Immundepression, als auch durch eine generell eingeschränkte virusspezifische T-Zellimmunität erklärt werden (Reinke et al. 1994). Im Gegensatz hierzu haben Patienten mit humoraler Präsensibilisierung im Rahmen von Retransplantationen ein höheres Risiko im Langzeitverlauf nach Nierentransplantation eine aktive BKV-Infektion zu entwickeln. Hierbei zeigen Patienten mit spätem Auftreten einer aktiven BKV-Infektion eine seltenere Erholung der Nierentransplantatfunktion, die am ehesten auf eine verzögerte Diagnosestellung und ein fortgeschrittenes Krankheitsstadium zurückzuführen ist. Da fast ausschließlich Patienten nach Nierentransplantation von einer BKV-assoziierten Nephropathie betroffen sind, scheinen neben der Stärke der Immunsuppression niereneigene Faktoren, wie eine erhöhte Vulnerabilität durch chronische Inflammation des Nierentransplantats (beispielsweise durch zelluläre und humorale Allosensibilisierung) für die Pathogenese der BKV-Replikation von Bedeutung zu sein (Dadhania et al. 2008; Sawinski et al. 2015). Die häufig diskutierte Assoziation der aktiven BKV-Infektion mit höherem Lebensalter und männlichen Geschlecht (Hirsch et al. 2002; Hirsch et al. 2005) lässt sich in den vorliegenden Arbeiten nicht

bestätigen. Vor dem Hintergrund der vorliegenden Arbeiten empfiehlt sich deshalb bei Patienten nach Retransplantation ein engmaschigeres Screening der BKV-Viruslast, besonders im Langzeitverlauf nach Transplantation.

Bei Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation kommt es häufiger zum Fortschreiten einer aktiven BKV-Infektion zur BKV-assoziierten Nephropathie als nach alleiniger Nierentransplantation (Schachtner et al. 2016b; Lipshutz et al. 2005). Die BKV-assoziierte Nephropathie nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation zeigt zudem einen schwereren Verlauf, der durch eine höhere maximale BKV-Viruslast, die Notwendigkeit umfassenderer Therapiestrategien mit Cidofovir und intravenösen Immunglobulinen sowie eine seltenere Erholung der Nierentransplantatfunktion gekennzeichnet ist. Die Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation zeigen hierbei ein signifikant späteres Auftreten der BKV-assoziierten Nephropathie. Eine verzögerte Diagnosestellung aufgrund längerer Monitoringintervalle der BKV-Viruslast und ein unter Umständen weiter fortgeschrittenes Stadium der BKV-assoziierten Nephropathie scheinen für die Unterschiede verantwortlich zu sein. Nicht geklärt werden konnte bisher, weshalb es bei Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation trotz T-Zell-depletierender Induktionstherapie erst im späteren Verlauf zur aktiven BKV-Infektion kommt. Als Hypothese wird diskutiert, dass das Nierentransplantat aufgrund der Güte der Organqualität bei kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation weniger vulnerabel für das Auftreten einer frühen aktiven BKV-Infektion ist, wobei die stärkere Erhaltungssimmunsuppression die Patienten zum späteren Auftreten der aktiven BKV-Infektion prädisponiert. Die Beobachtung schwerer aktiver BKV-Infektionen scheinen vordergründig mit der Anwendung T-Zell-depletierender Induktions- und Rejektionstherapie nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation in Zusammenhang zu stehen (Schachtner et al. 2015c; Schachtner et al. 2016b; Schachtner et al. 2016c). Das häufige Fortschreiten zur BKV-assoziierten Nephropathie kann zudem durch eine geringere Reduktion der Immunsuppression aus Sorge vor akuten Abstoßungsreaktionen des Pankreastransplantats begünstigt werden. In diesem Kontext kann auch die höhere Inzidenz simultaner aktiver CMV-, BKV- und EBV-Infektionen gewertet werden, die insbesondere eine fehlende bzw. eingeschränkte virusspezifische T-Zellimmunität nahelegt. Neben der stärkeren Induktions- und Erhaltungssimmunsuppression können ferner vermeintlich niedrigere Seroprävalenzen aufgrund des häufig jungen Alters von Spender und Empfänger als auch der Diabetes mellitus Typ 1 als Grunderkrankung zu einer eingeschränkten virusspezifischen Immunität beitragen. Die Dauer des Diabetes mellitus Typ 1 und eine verzögerte Transplantatfunktionsaufnahme sind weitere Risikofaktoren (Mindlova et al. 2012). Es ist naheliegend, dass durch eine frühere Diagnosestellung das Fortschreiten der aktiven BKV-Infektion zur BKV-assoziierten Nephropathie vermindert und somit das Nierentransplantatüberleben verbessert werden kann. Vor dem Hintergrund der vorliegenden Ergebnisse empfiehlt sich deshalb bei Patienten nach kombinierter Nieren-/Pankreastransplantation ein engmaschigeres Screening der BKV-Viruslast, gerade im Langzeitverlauf nach Transplantation.

Weder durch vorliegende, noch durch vorherige Arbeiten konnten Risikofaktoren ermittelt werden, die das Fortschreiten der aktiven BKV-Infektion zur BKV-assoziierten Nephropathie begünstigen. Im Speziellen konnte kein Zusammenhang zwischen einer höheren Tacrolimus-Exposition zum Zeitpunkt der aktiven BKV-Infektion und dem Fortschreiten zur BKV-assoziierten Nephropathie gezeigt werden. Bezüglich der prognostischen Risikostratifizierung erscheint der Stellenwert epidemiologischer und demografischer Faktoren ungenügend, weshalb

die Bedeutung der virusspezifischen T-Zellimmunität als prognostischen Biomarker für das Fortschreiten zur gewebeinvasiven CMV- und BKV-Erkrankung von äußerst hohem Interesse ist.

### 3.2 Risikostratifizierung von Virusinfektionen nach Nierentransplantation durch Quantifizierung der virusspezifischen zellulären Immunität

Da die Risikostratifizierung durch epidemiologische und demografische Faktoren lediglich eine grobe Klassifikation symptomfreier Patienten ermöglicht, sind zusätzliche diagnostische Biomarker erforderlich, um das individuelle Risiko dieser Patienten abschätzen zu können. Besonders bei der Prognoseeinschätzung von Patienten mit aktiver Virusreplikation liefern epidemiologische und demografische Faktoren keinen Erkenntnisgewinn.

Zur individuellen Risikostratifizierung von Virusinfektionen nach Nierentransplantation konnte durch den Interferon- $\gamma$  detektierenden ELISpot Assay eine zuverlässige und praktikable Methode etabliert werden (Bunde et al. 2005; Binggeli et al 2007; Schachtner et al. 2011; Egli et al. 2012).

#### *Risikostratifizierung für die Entwicklung einer aktiven CMV-Infektion*

Die Bestimmung der CMV-spezifischen T-Zellimmunität gegen das Nichtstrukturprotein IE1 ermöglicht eine Risikostratifizierung für die Entwicklung einer aktiven CMV-Infektion (Schachtner et al. 2017a). Der Nachweis CMV-spezifischer T-Zellen bei CMV-seronegativen Empfängern ist hierbei von herausragender Bedeutung, da die Quantifizierung CMV-spezifischer T-Zellen somit eine über die CMV-Serologie hinausgehende Risikostratifizierung ermöglicht. Diese Erkenntnisse liefern somit eine Erklärung, weshalb es bei manchen CMV-seronegativen Empfängern eines CMV-seropositiven Spenderorgans zu einem schweren Verlauf mit gewebeinvasiver CMV-Erkrankung kommt, bei anderen zur symptomlosen CMV-Virämie und wiederum bei anderen zu keiner nachweisbaren CMV-Virämie. Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen, dass sich in einem relevanten Anteil der CMV-seronegativen Patienten von etwa 20 % bereits vor Nierentransplantation präformierte CMV-spezifische T-Zellen nachweisen lassen, die entsprechend ihrer Kinetik nach Transplantation prädiktiv für das Auftreten einer aktiven CMV-Infektion sind (Schachtner et al. 2017a; Lucia et al. 2014). Als Gründe für diese Beobachtung kommen das Fehlen CMV-spezifischer Antikörper trotz nachweisbarer CMV-spezifischer B-Zellen als auch eine Kreuzreaktivität von T-Gedächtniszellen mit CMV-Epitopen in Frage (Lucia et al. 2014).

Die alleinige Bestimmung CMV-spezifischer T-Zellen vor Nierentransplantation ist jedoch nicht geeignet, um eine Risikostratifizierung für das Auftreten einer aktiven CMV-Infektion vorzunehmen. Vielmehr zeigt die Kinetik der CMV-spezifischen T-Zellimmunität in Abhängigkeit der initialen Induktions- und Erhaltungssimmunsuppression an, ob Patienten auch nach Nierentransplantation eine protektive CMV-spezifische T-Zellantwort aufrechterhalten oder sogar entwickeln können. Die Protektion einer aktiven CMV-Infektion wird hierbei im Speziellen einer CMV-spezifischen T-Zellantwort gegen das Nichtstrukturprotein IE1 zugeschrieben (Bunde et al. 2005; Nickel et al. 2009; Bestard et al. 2015).

Auf der Grundlage der vorliegenden Ergebnisse kann für die aktive CMV-Infektion eine individuelle Risikostratifizierung durch die Charakterisierung der CMV-spezifischen T-Zellimmunität vor und nach Transplantation erreicht werden:

(a) Patienten mit Nachweis CMV-spezifischer T-Zellen gegen das Nichtstrukturprotein IE1 vor und nach Transplantation oder (b) solche, die CMV-spezifische T-Zellen gegen das Nichtstrukturprotein IE1 nach Transplantation entwickeln, haben ein geringes Risiko für eine aktive CMV-Infektion. In dieser Patientengruppe kann die CMV-Prophylaxe beendet werden und eine präemptive Therapiestrategie mit Monitoring der CMV-Viruslast begonnen werden.

(c) Patienten ohne Nachweis CMV-spezifischer T-Zellen gegen das Nichtstrukturprotein IE1 vor und nach Transplantation oder (d) solche, die CMV-spezifische T-Zellen gegen das Nichtstrukturprotein IE1 nach Transplantation verlieren, haben ein erhöhtes Risiko für eine CMV-Virämie. In dieser Patientengruppe sollte die CMV-Prophylaxe fortgesetzt werden und eine erneute Bestimmung der CMV-spezifischen T-Zellimmunität am Ende der CMV-Prophylaxe erfolgen. Inwieweit eine Verlängerung der CMV-Prophylaxe bei fehlendem Nachweis CMV-spezifischer T-Zellen das Risiko für eine aktive CMV-Infektion verringert und zur Generierung einer protektiven CMV-spezifischen T-Zellimmunität beiträgt, ist nicht endgültig geklärt (San-Juan et al. 2015). Hingegen ermöglicht die präemptive Therapiestrategie im Falle einer aktiven CMV-Infektion die Exposition gegenüber CMV-Antigen und Generierung einer CMV-spezifischen zellulären Immunität, die zur Kontrolle der CMV-Viruslast und Langzeitprotektion notwendig ist (Higdon et al. 2017).

#### *Risikostratifizierung für das Fortschreiten zur gewebeinvasiven CMV-Erkrankung*

Die Bestimmung der CMV-spezifischen T-Zellantwort gegen das Nichtstrukturprotein IE1 ermöglicht vor Transplantation eine Risikostratifizierung für das Fortschreiten einer aktiven CMV-Infektion zur gewebeinvasiven CMV-Erkrankung. Da CMV-seronegative Empfänger eines CMV-seropositiven Spenderorgans das höchste Risiko für einen schweren Verlauf der aktiven CMV-Infektion mit Fortschreiten zur gewebeinvasiven CMV-Erkrankung haben, kann neben CMV-seropositiven Patienten ganz besonders diese Hochrisikogruppe durch eine bessere Risikostratifizierung durch Bestimmung der Kinetik der CMV-spezifischen T-Zellimmunität vor und nach Nierentransplantation profitieren:

Hierbei sind Patienten, die eine protektive CMV-spezifische T-Zellantwort gegen das Nichtstrukturprotein IE1 nach Einleitung der Induktions- und Erhaltungssimmunsuppression verlieren, durch Exposition gegenüber CMV-Antigen im Rahmen einer aktiven CMV-Infektion rasch in der Lage eine protektive CMV-spezifische T-Zellantwort zu generieren und die CMV-Replikation zu kontrollieren. Im Gegensatz hierzu führt das Fehlen einer CMV-spezifischen T-Zellantwort gegen das Nichtstrukturprotein IE1 vor Transplantation häufiger zum Fortschreiten der aktiven CMV-Infektion zur gewebeinvasiven CMV-Erkrankung, da die Entwicklung einer protektiven CMV-spezifischen T-Zellimmunität unter Immunsuppression nicht oder nicht schnell genug erfolgt. Da für die Therapie der aktiven CMV-Infektion eine effektive antivirale Therapie durch Valganciclovir und Ganciclovir zur Verfügung steht, bietet die Bestimmung der CMV-spezifischen T-Zellantwort zum Zeitpunkt der Diagnosestellung der aktiven CMV-Infektion nur wenig prognostischen Nutzen. Vielmehr kann die Bestimmung der CMV-spezifischen T-

Zellimmunität am Ende der antiviralen Therapie als Biomarker für das Risiko rekurrenter CMV-Replikationen herangezogen werden.

### *Risikostratifizierung für die Entwicklung einer aktiven BKV-Infektion*

Die Bestimmung der BKV-spezifischen T-Zellimmunität ermöglicht eine Risikostratifizierung für die Entwicklung einer aktiven BKV-Infektion (Schachtner et al. 2011; Schachtner et al. 2014; Schachtner et al. 2015a). Hierbei ist es gelungen, die Bedeutung der BKV-spezifischen T-Zellimmunität gegen die Nichtstrukturproteine *small* und *large tumor-antigen* für Kontrolle und Protektion einer BKV-Virämie hervorzuheben (Prosser et al. 2008; Schachtner et al. 2015a). Der Nachweis BKV-spezifischer T-Zellen gegen die Strukturproteine VP1, VP2 und VP3 stellt vielmehr einen Marker für eine stattgehabte oder aktive BKV-Virämie dar.

Ähnlich wie für CMV gezeigt, können durch die alleinige Bestimmung der BKV-spezifischen T-Zellantwort vor Nierentransplantation Patienten mit geringem oder hohem Risiko für eine aktive BKV-Infektion nicht identifiziert werden. Auch hier zeigt die Kinetik der BKV-spezifischen T-Zellimmunität an, ob Patienten auch nach Nierentransplantation eine protektive BKV-spezifische T-Zellantwort aufrechterhalten oder entwickeln können. Die Protektion vor einer aktiven BKV-Infektion wird insbesondere durch BKV-spezifische T-Zellen gegen die Nichtstrukturproteine *small*- und *large-tumor antigen* vermittelt (Schachtner et al. 2014; Schachtner et al. 2015a).

Auf der Grundlage der vorliegenden Ergebnisse kann auch für die aktive BKV-Infektion eine individuelle Risikostratifizierung durch die Charakterisierung der BKV-spezifischen T-Zellimmunität vor und nach Transplantation erreicht werden: (a) Patienten mit Nachweis BKV-spezifischer T-Zellen gegen die Nichtstrukturproteine *small*- und *large-tumor antigen* vor und nach Transplantation oder (b) solche, die BKV-spezifische T-Zellen gegen die Nichtstrukturproteine *small*- und *large-tumor antigen* nach Transplantation entwickeln, haben ein geringes Risiko für eine aktive BKV-Infektion. In dieser Patientengruppe wird eine präemptive Diagnostik und Therapie mit Monitoring der BKV-Viruslast im Speziellen im Falle erhöhter Immunsuppression im Rahmen von Abstoßungstherapie empfohlen. (c) Patienten mit Nachweis BKV-spezifischer T-Zellen gegen die Nichtstrukturproteine *small*- und *large-tumor antigen* vor und nach Transplantation, die diese protektive Immunität nach Einleitung der Induktions- und Erhaltungsimmunsuppression verlieren, haben das höchste Risiko für das Auftreten einer aktiven BKV-Infektion. Diese Patienten können durch ein engmaschiges Monitoring der BKV-Viruslast und ggf. eine sorgfältige Anpassung der Erhaltungsimmunsuppression profitieren. (d) Patienten mit fehlendem Nachweis BKV-spezifischer T-Zellen gegen die Nichtstrukturproteine *small*- und *large-tumor antigen* vor und nach Transplantation können durch diese Risikostratifizierung nicht weiter klassifiziert werden.

Als Hypothese wird diskutiert, dass erhöhte Frequenzen BKV-spezifischer T-Zellen gegen die Nichtstrukturproteine *small*- und *large-tumor antigen* vor Transplantation Ausdruck der immunologischen Kontrolle einer chronischen/subklinischen BKV-Replikation sein können, die durch Einleitung der Immunsuppression und Verlust der protektiven T-Zellimmunität zur aktiven BKV-Infektion fortschreitet.

Die Risikostratifizierung mittels Nachweis BKV-spezifischer T-Zellen ist zudem bei Patienten, die ein erstes Nierentransplantat durch eine BKV-assoziierte Nephropathie verloren haben, von besonderem Interesse. Inwiefern hierbei durch eine Reduktion/Absetzen der Immunsuppression

die Entwicklung einer protektiven BKV-spezifischen T-Zellimmunität erreicht werden kann, muss vor dem Hintergrund des Risikos einer humoralen und zellulären Allosensibilisierung bewertet werden, zumal die aktive BKV-Infektion mit der Entwicklung von *de novo* donorspezifischen Antikörpern und T-Zellen assoziiert ist (Sawinski et al. 2015; Schachtner et al. 2015a).

#### *Risikostratifizierung für das Fortschreiten zur BKV-assoziierten Nephropathie*

Die Bestimmung der BKV-spezifischen T-Zellimmunität gegen die Nichtstrukturproteine *small* und *large tumor-antigen* ermöglicht erstmals eine Risikostratifizierung für das Fortschreiten einer aktiven BKV-Infektion zur BKV-assoziierten Nephropathie (Schachtner et al. 2011; Schachtner et al. 2015a; Weist et al. 2015).

Patienten mit selbstlimitierender aktiver BKV-Infektion und solchen, die eine BKV-assoziierte Nephropathie entwickeln, haben häufig zum Zeitpunkt der Diagnose der BKV-Virämie keine nachweisbaren BKV-spezifischen T-Zellen. Patienten mit selbstlimitierender aktiver BKV-Infektion entwickeln jedoch meist innerhalb weniger Wochen eine suffiziente BKV-spezifische T-Zellantwort gegen die Nichtstrukturproteine *small* und *large tumor-antigen*, die mit der raschen Clearance der BKV-Virämie einhergeht. Im Gegensatz hierzu lässt sich bei Patienten mit Fortschreiten zur BKV-assoziierten Nephropathie bei steigender BKV-Viruslast zwar eine BKV-spezifische T-Zellantwort gegen die Strukturproteine VP1, VP2 und VP3 nachweisen, jedoch keine protektive BKV-spezifische T-Zellantwort gegen die Nichtstrukturproteine *small* und *large tumor-antigen*. Die Charakterisierung der BKV-spezifischen T-Zellimmunität kann, insbesondere bei Patienten mit relevanter BKV-Viruslast von mehr als 10.000 Kopien/ml und ohne Verschlechterung der Nierenfunktion, die Bestimmung der BKV-Viruslast als prognostischer Biomarker ergänzen und zur Entscheidungsfindung bei der Reduktion der Immunsuppression beitragen.

Zudem kann durch die Bestimmung der BKV-spezifischen T-Zellimmunität bei Patienten, die eine manifeste BKV-assoziierte Nephropathie entwickelt haben, das Ansprechen auf die Reduktion/Modifikation der Immunsuppression im Sinne der Entwicklung einer BKV-spezifischen T-Zellantwort gegen die Nichtstrukturproteine *small* und *large tumor-antigen* überwacht werden.

Die Risikostratifizierung von Virusinfektionen durch die Quantifizierung virusspezifischer T-Zellen ermöglicht eine verbesserte und individuelle Diagnostik, Prognoseeinschätzung und Therapieüberwachung bei Patienten nach Organtransplantation. Dieses neue Diagnosekonzept sollte unmittelbar in die klinische Anwendung umgesetzt werden. Die hierfür erforderliche Standardisierung und Validierung der in dieser Arbeit dargestellten Methodik der Quantifizierung virusspezifischer T-Zellen ist dabei bereits erfolgt, wobei für den Nachweis CMV-spezifischer T-Zellen bereits kommerziell erhältliche Testsysteme zur Verfügung stehen. Die für die routinemäßige klinische Anwendung notwendige Prüfung in prospektiven multizentrischen Studien findet gegenwärtig im Rahmen des *BIOMarker-Driven personalized IMMunosuppression* (BIODrIM) Projektes statt.



#### 4. Zusammenfassung

Die Primärinfektion und die Reaktivierung der latenten Infektion mit dem Cytomegalievirus (CMV) und dem Polyomavirus BK (BKV) stellen eine schwere Komplikation nach Nierentransplantation dar und führen durch die erhöhte Inzidenz akuter zellulärer und humoraler Abstoßungsreaktionen und im Fall der BKV-assoziierten Nephropathie zu einer verminderten Langzeitfunktion des Nierentransplantats. Die Entwicklung einer viruspezifischen T-Zellimmunität ist hierbei von zentraler Bedeutung bei der immunologischen Kontrolle der latenten Virusinfektion, um beim Auftreten einer Virämie eine rasche Viruselimination zu erreichen und ein Fortschreiten zur gewebeinvasiven Erkrankung zu verhindern.

Die Beurteilung epidemiologischer und demografischer Faktoren ermöglicht es Patientengruppen mit hohem Risiko für eine aktive CMV- oder BKV-Infektion zu identifizieren. In diesem Zusammenhang zeigen die vorliegenden Arbeiten, dass Empfänger, die eine T-Zell-depletierende Induktionstherapie erhalten und Empfänger einer kombinierten Nieren-/Pankreastransplantation ein erhöhtes Risiko für eine aktive CMV- oder BKV-Infektion haben. CMV-seronegative Empfänger eines CMV-seropositiven Spenderorgans haben zudem ein erhöhtes Risiko für eine aktive CMV-Infektion und das Fortschreiten zur gewebeinvasiven CMV-Erkrankung.

Der Stellenwert epidemiologischer und demografischer Faktoren bleibt jedoch begrenzt und stellt lediglich eine grobe Klassifikation der Patienten dar. Aus diesem Grund sind zusätzliche Biomarker dringend notwendig, um gerade innerhalb der Gruppen mit hohem Risiko eine individuelle Risikostratifizierung symptomfreier Patienten und eine bessere Prognoseeinschätzung bei Patienten mit aktiver Virusreplikation zu ermöglichen. Hierfür konnte durch den Interferon- $\gamma$  detektierenden *Enzyme-Linked Immuno-Spot* (ELISpot) Assay eine zuverlässige und praktikable Methode etabliert werden. Der Nutzen der Quantifizierung viruspezifischer Gedächtnis-T-Zellen als diagnostischer und prognostischer Biomarker wird in den vorliegenden Arbeiten analysiert, wobei folgende Fragestellungen erörtert werden:

- (1) Kann der Nachweis viruspezifischer Gedächtnis-T-Zellen als diagnostischer Biomarker genutzt werden, um symptomfreie Risikopatienten für eine aktive Virusreplikation rechtzeitig und zuverlässig zu identifizieren?
- (2) Kann der Nachweis viruspezifischer Gedächtnis-T-Zellen als prognostischer Biomarker genutzt werden, um bei Patienten mit aktiver Virusreplikation das Risiko für ein Fortschreiten zu einer gewebeinvasiven Erkrankung abzuschätzen?

Zu den Ergebnissen der Arbeiten lässt sich Folgendes zusammenfassen: (1) Die Bestimmung der CMV-spezifischen T-Zellantwort gegen das Nichtstrukturprotein *immediate early protein 1* und der BKV-spezifischen T-Zellantwort gegen die Nichtstrukturproteine *small* und *large tumor-antigen* ermöglichen eine Risikostratifizierung für die Entwicklung einer aktiven CMV- und BKV-Infektion. Von besonderer Bedeutung ist hierbei, dass CMV-spezifische T-Zellen bei einem relevanten Anteil CMV-seronegativer Empfänger nachweisbar sind, und erstmals in dieser Gruppe mit hohem Risiko eine individuelle Risikostratifizierung ermöglichen.

Die alleinige Bestimmung der protektiven viruspezifischen T-Zellen vor Transplantation ist jedoch nicht geeignet, um symptomfreie Patienten mit geringem oder hohem Risiko für eine aktive CMV- oder BKV-Infektion zu identifizieren. Vielmehr zeigt die Kinetik der viruspezifischen T-Zellantwort in Abhängigkeit von Induktions- und Erhaltungs-

immunsuppression an, ob Patienten auch nach Nierentransplantation eine protektive virusspezifische T-Zellantwort aufrechterhalten oder entwickeln können. Diese Ergebnisse ermöglichen eine individuelle Risikostratifizierung und Entscheidung über die Fortführung der CMV-Prophylaxe sowie die Screeningdichte der CMV- und BKV-Viruslast bei präemptiver Diagnostik und Therapie.

(2) Bei Patienten mit aktiver CMV- oder BKV-Infektion lässt sich die Quantifizierung der virusspezifischen T-Zellimmunität im Verlauf der Virämie als prognostischer Biomarker für das Fortschreiten zur gewebeinvasiven Erkrankung anwenden. Durch die Bestimmung der BKV-spezifischen T-Zellimmunität bei Patienten mit BKV-assoziierte Nephropathie kann außerdem das Ansprechen auf die Reduktion der Immunsuppression überwacht werden.

Zur Verbesserung von Diagnostik, Prognoseeinschätzung und Therapieüberwachung bei Patienten mit aktiver CMV- und BKV-Infektion nach Organtransplantation gilt es, die vorliegenden Ergebnisse in die unmittelbare klinische Anwendung umzusetzen. Hierfür erfolgte bereits die Standardisierung und Validierung der in dieser Arbeit dargestellten Methodik zur Quantifizierung virusspezifischer T-Zellen. Die für die routinemäßige klinische Anwendung notwendige Prüfung in prospektiven multizentrischen Studien findet gegenwärtig im Rahmen des *BIOmarker-Driven personalized IMMunosuppression* (BIODrIM) Projektes statt.

## 5. Literaturangaben

1. Abend JR, Changala M, Sathe A, et al. *Correlation of BK Virus Neutralizing Serostatus With the Incidence of BK Viremia in Kidney Transplant Recipients*. *Transplantation* 2017; 101: 1495-1505.
2. Agrawal N, Echenique IA, Meehan SM, et al. *Variability in assessing for BK viremia: whole blood is not reliable and plasma is not above reproach, a retrospective analysis*. *Transpl Int* 2017; 30: 670-678.
3. Aguado JM, Torre-Cisneros J, Fortún J, et al. *Tuberculosis in solid-organ transplant recipients: consensus statement of the group for the study of infection in transplant recipients (GESITRA) of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology*. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 1276-1284.
4. Aoshi T, Koyama S, Kobiyama K, Akira S, Ishii KJ. *Innate and adaptive immune responses to viral infection and vaccination*. *Curr Opin Virol* 2011; 1: 226–232.
5. Arthurs SK, Eid AJ, Pedersen RA, et al. *Delayed-onset primary cytomegalovirus disease and the risk of allograft failure and mortality after kidney transplantation*. *Clin Infect Dis* 2013; 46: 840-846.
6. Awadalla Y, Randhawa P, Ruppert K, Zeevi A, Duquesnoy RJ. *HLA mismatching increases the risk of BK virus nephropathy in renal transplant recipients*. *Am J Transplant* 2004; 4: 1691-1696.
7. Babel N, Fendt J, Karaivanov S, et al. *Sustained BK viruria as an early marker for the development of BKV-associated nephropathy: analysis of 4128 urine and serum samples*. *Transplantation* 2009; 88: 89-95.
8. Barber CE, Hewlett TJ, Geldenhuis L, Kiberd BA, Acott PD, Hatchette TF. *BK virus nephropathy in a heart transplant recipient: case report and review of the literature*. *Transpl Infect Dis* 2006; 8: 113-121.
9. Baumgarth N. *How specific is too specific? B-cell responses to viral infections reveal the importance of breadth over depth*. *Immunol Rev* 2013; 255: 82-94.
10. Bestard O, Lucia M, Crespo E, et al. *Pretransplant immediately early-1-specific T cell responses provide protection for CMV infection after kidney transplantation*. *Am J Transplant* 2013; 13: 1793-1805.
11. Binggeli S, Egli A, Schaub S et al. *Polyomavirus BK-specific cellular immune response to VP1 and large T-antigen in kidney transplant recipients*. *Am J Transplant* 2007; 7: 1131-1139.
12. Biomarkers Definitions Working Group. *Biomarkers and surrogate end points: preferred definitions and conceptual framework*. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69: 89–95.
13. Bohl DL, Storch GA, Ryschkewitsch C, et al. *Donor origin of BK virus in renal transplantation and role of HLA C7 in susceptibility to sustained BK viremia*. *Am J Transplant* 2005; 5: 2213-2221.

14. Braciale TJ, Hahn YS. *Immunity to viruses*. Immunol Rev 2013; 255: 5-12.
15. Brennan DC, Agha I, Bohl DL, et al. *Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction*. Am J Transplant 2005; 5: 582-594.
16. Brestrich G, Zwinger S, Fischer A, et al. *Adoptive T-cell therapy of a lung transplanted patient with severe CMV disease and resistance to antiviral therapy*. Am J Transplant 2009a; 9: 1679-1684.
17. Brestrich G, Zwinger S, Roemhild A, et al. *Generation of HCMV-specific T-cell lines from seropositive solid-organ-transplant recipients for adoptive T-cell therapy*. J Immunother 2009b; 32: 932-940.
18. Buehrig CK, Lager DJ, Stegall MD, et al. *Influence of surveillance renal allograft biopsy on diagnosis and prognosis of polyomavirus-associated nephropathy*. Kidney Int 2003; 64: 665-673.
19. Bunde T, Kirchner A, Hoffmeister B, et al. *Protection from cytomegalovirus after transplantation is correlated with immediate early 1-specific CD8 T cells*. J Exp Med 2005; 201: 1031-1036.
20. Cantisán S, Lara R, Montejo M, et al. *Pretransplant interferon- $\gamma$  secretion by CMV-specific CD8+ T cells informs the risk of CMV replication after transplantation*. Am J Transplant 2013; 13: 738-745.
21. Celik B, Shapiro R, Vats A, Randhawa PS. *Polyomavirus allograft nephropathy: sequential assessment of histologic viral load, tubulitis, and graft function following changes in immunosuppression*. Am J Transplant 2003; 3: 1378-1382.
22. Chong PP, Razonable RR. *Diagnostic and management strategies for donor-derived infections*. Infect Dis Clin North Am 2013; 27: 253-270.
23. Dadhania D, Snopkowski C, Ding R, et al. *Epidemiology of BK virus in renal allograft recipients: independent risk factors for bk virus replication*. Transplantation 2008; 86: 521-528.
24. Drachenberg CB, Beskow CO, Cangro CB, et al. *Human polyoma virus in renal allograft biopsies: morphological findings and correlation with urine cytology*. Hum Pathol 1999; 30: 970-977.
25. Drachenberg RC, Drachenberg CB, Papadimitriou JC, et al. *Morphological spectrum of polyoma virus disease in renal allografts: diagnostic accuracy of urine cytology*. Am J Transplant 2001; 1: 373-381.
26. Drachenberg CB, Papadimitriou JC. *Polyomavirus-associated nephropathy: update in diagnosis*. Transpl Infect Dis 2006; 8: 68-75.
27. Egli A, Köhli S, Dickenmann M, Hirsch HH. *Inhibition of polyomavirus BK-specific T-Cell responses by immunosuppressive drugs*. Transplantation 2009; 88: 1161-1168.
28. Egli A, Humar A, Kumar D. *State-of-the-art monitoring of cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity after organ transplant: a primer for the clinician*. Clin Infect Dis 2012; 55: 1678-1689.

29. Egli A, Kumar D, Broscheit C, O'Shea D, Humar A. *Comparison of the effect of standard and novel immunosuppressive drugs on CMV-specific T-cell cytokine profiling.* Transplantation 2013; 95: 448-455.
30. Emery VC, Sabin CA, Cope AV, Gor D, Hassan-Walker AF, Griffiths PD. *Application of viral-load kinetics to identify patients who develop cytomegalovirus disease after transplantation.* Lancet 2000; 355: 2032-2036.
31. Fischer SA, Graham MB, Kuehnert MJ, et al. *Transmission of lymphocytic choriomeningitis virus by organ transplantation.* N Engl J Med 2006; 354: 2235-2249.
32. Fishman JA. *Prevention of infection caused by Pneumocystis carinii in transplant recipients.* Clin Infect Dis 2001; 33: 1397-1405.
33. Fishman JA. *Infection in solid-organ transplant recipients.* N Engl J Med 2007; 357: 2601-2614.
34. Fishman JA, Issa NC. *Infection in organ transplantation: risk factors and evolving patterns of infection.* Infect Dis Clin North Am 2010; 24: 273-283.
35. Fishman JA, Grossi PA. *Donor-derived infection--the challenge for transplant safety.* Nat Rev Nephrol 2014; 10: 663-672.
36. Gardner SD, MacKenzie EF, Smith C, Porter AA. *Prospective study of the human polyomaviruses BK and JC and cytomegalovirus in renal transplant recipients.* J Clin Pathol 1984; 37: 578-586.
37. Getts DR, Chastain EML, Terry RL, Miller SD. *Virus infection, antiviral immunity, and autoimmunity.* Immunol Rev 2013; 255: 197-209.
38. Griffiths PD, Stanton A, McCarrell E, et al. *Cytomegalovirus glycoprotein-B vaccine with MF59 adjuvant in transplant recipients: a phase 2 randomised placebo-controlled trial.* Lancet. 2011; 377: 1256-1263.
39. Hariharan S, Cohen EP, Vasudev B, et al. *BK virus-specific antibodies and BKV DNA in renal transplant recipients with BKV nephritis.* Am J Transplant 2005; 5: 2719-2724.
40. Harvala H, Stewart C, Muller K, et al. *High risk of cytomegalovirus infection following solid organ transplantation despite prophylactic therapy.* J Med Virol 2013; 85: 893-898.
41. Helanterä I, Schachtner T, Hinrichs C, et al. *Current characteristics and outcome of cytomegalovirus infections after kidney transplantation.* Transpl Infect Dis 2014; 16: 568-577.
42. Higdon LE, Trofe-Clark J, Liu S, et al. *Cytomegalovirus-Responsive CD8+ T Cells Expand After Solid Organ Transplantation in the Absence of CMV Disease.* Am J Transplant 2017; 17: 2045-2054.
43. Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, et al. *Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients.* N Engl J Med 2002; 347: 488-496.

44. Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB, et al. *Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations*. *Transplantation* 2005; 79: 1277-1286.
45. Hirsch HH, Vincenti F, Friman S, et al. *Polyomavirus BK replication in de novo kidney transplant patients receiving tacrolimus or cyclosporine: a prospective, randomized, multicenter study*. *Am J Transplant* 2013; 13: 136-145.
46. Humar A, Lebranchu Y, Vincenti F, et al. *The efficacy and safety of 200 days valganciclovir cytomegalovirus prophylaxis in high-risk kidney transplant recipients*. *Am J Transplant* 2010; 10:1228-1237.
47. Imperiale M. *The human polyomaviruses: An overview*. In: *Human Polyomaviruses: Molecular and Clinical Perspectives*. Khalili K, Stoner GL (Eds), Wiley-Liss, Wilmington 2001; 54-60.
48. Issa NC, Fishman JA. *Infectious complications of antilymphocyte therapies in solid organ transplantation*. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 772-786.
49. Kalil AC, Levitsky J, Lyden E, Stoner J, Freifeld AG. *Meta-analysis: the efficacy of strategies to prevent organ disease by cytomegalovirus in solid organ transplant recipients*. *Ann Intern Med* 2005; 143: 870-880.
50. Kaminski H, Couzi L, Garrigue I, Moreau JF, Déchanet-Merville J, Merville P. *Easier Control of Late-Onset Cytomegalovirus Disease Following Universal Prophylaxis Through an Early Antiviral Immune Response in Donor-Positive, Recipient-Negative Kidney Transplants*. *Am J Transplant* 2016; 16: 2384-2394.
51. Kasiske BL, Zeier MG, Chapman JR, et al. *KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients: a summary*. *Kidney Int* 2010; 77: 299-311.
52. Kern F, Ode-Hakim S, Nugel H, Vogt K, Volk HD, Reinke P. *Peripheral T cell activation in long-term renal transplant patients: concordant upregulation of adhesion molecules and cytokine gene transcription*. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 2476-2482.
53. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. *Transplantation Society International CMV Consensus Group. Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation*. *Transplantation* 2013; 96: 333-360.
54. Kotton CN. *Immunization after kidney transplantation-what is necessary and what is safe?* *Nat Rev Nephrol* 2014; 10: 555-562.
55. Kumar D, Chernenko S, Moussa G, et al. *Cell-mediated immunity to predict cytomegalovirus disease in high-risk solid organ transplant recipients*. *Am J Transplant* 2009; 9: 1214-1222.
56. Leuenberger D, Andresen PA, Gosert R, et al. *Human polyomavirus type 1 (BK virus) agnoprotein is abundantly expressed but immunologically ignored*. *Clin Vaccine Immunol* 2007; 14: 959-968.
57. Limaye AP, Smith KD, Cook L, et al. *Polyomavirus nephropathy in native kidneys of non-renal transplant recipients*. *Am J Transplant* 2005; 5: 614-620.

58. Lipshutz GS, Mahanty H, Feng S, et al. *BKV in simultaneous pancreas-kidney transplant recipients: a leading cause of renal graft loss in first 2 years post-transplant*. Am J Transplant 2005; 5: 366-373.
59. Ljungman P, Boeckh M, Hirsch HH, et al.; Disease Definitions Working Group of the Cytomegalovirus Drug Development Forum. *Definitions of Cytomegalovirus Infection and Disease in Transplant Patients for Use in Clinical Trials*. Clin Infect Dis 2017; 64: 87-91.
60. Lollinga WT, Rurenga-Gard L, van Doesum W, et al. *High Human Cytomegalovirus DNAemia Early Post-Transplantation Associates With Irreversible And Progressive Loss of Renal Function*. Transpl Int 2017; 30: 817-826.
61. Lucia M, Crespo E, Melilli E, et al. *Preformed frequencies of cytomegalovirus (CMV)-specific memory T and B cells identify protected CMV-sensitized individuals among seronegative kidney transplant recipients*. Clin Infect Dis 2014; 59: 1537-1545.
62. Martin-Gandul C, Mueller NJ, Pascual M, Manuel O. *The Impact of Infection on Chronic Allograft Dysfunction and Allograft Survival After Solid Organ Transplantation*. Am J Transplant 2015;15: 3024-3040.
63. Marty FM, Winston DJ, Rowley SD, et al. *CMX001-201 Clinical Study Group. CMX001 to prevent cytomegalovirus disease in hematopoietic-cell transplantation*. N Engl J Med 2013; 369: 1227-1236.
64. Meijers RW, Litjens NH, Hesselink DA, Langerak AW, Baan CC, Betjes MG. *Primary Cytomegalovirus Infection Significantly Impacts Circulating T Cells in Kidney Transplant Recipients*. Am J Transplant 2015; 15: 3143-3156.
65. Melendez DP, Razonable RR. *Letermovir and inhibitors of the terminase complex: a promising new class of investigational antiviral drugs against human cytomegalovirus*. Infect Drug Resist 2015; 8: 269-277.
66. Mezocho AK, Henry R, Blumberg EA, Kotton CN. *Transfusion transmitted infections in solid organ transplantation*. Am J Transplant 2015; 15: 547-554.
67. Mindlova M, Boucek P, Saudek F, et al. *Prevalence and risk factors of polyomavirus BK replication in simultaneous pancreas/kidney transplant recipients from a single transplant center*. Clin Transplant 2012; 26: 267-274.
68. Mueller K, Schachtner T, Sattler A, et al. *BK-VP3 as a new target of cellular immunity in BK virus infection*. Transplantation 2011; 91: 100-107.
69. Mularoni A, Bertani A, Vizzini G, et al. *Outcome of Transplantation Using Organs From Donors Infected or Colonized With Carbapenem-Resistant Gram-Negative Bacteria*. Am J Transplant 2015; 15: 2674-2682.
70. Myhre HA, Haug Dorenberg D, Kristiansen KI, et al. *Incidence and outcomes of ganciclovir-resistant cytomegalovirus infections in 1244 kidney transplant recipients*. Transplantation 2011; 92: 217-223.
71. Nickel P, Bold G, Presber F, et al. *High levels of CMV-IE-1-specific memory T cells are associated with less alloimmunity and improved renal allograft function*. Transpl Immunol 2009; 20: 238-242.

72. Nিকেলেইট V, ক্লিমকাইট T, বিনেট IF, et al. *Testing for polyomavirus type BK DNA in plasma to identify renal-allograft recipients with viral nephropathy.* N Engl J Med 2000; 342:1309-1315.
73. Opelz G, Dohler B, Ruhenstroth A. *Cytomegalovirus prophylaxis and graft outcome in solid organ transplantation: A collaborative transplant study report.* Am J Transplant 2004; 4: 928-936.
74. Papadopoulou A, Gerdemann U, Katari UL, et al. *Activity of broad-spectrum T-cells as treatment for AdV, EBV, CMV, BKV and HHV6 infections after HSCT.* Sci Transl Med 2014; 6: 242-265.
75. Pello OM, Innes AJ, Bradshaw A, et al. *BKV-specific T cells in the treatment of severe refractory haemorrhagic cystitis after HLA-haploidentical haematopoietic cell transplantation.* Eur J Haematol 2017; 98: 632-634.
76. Prösch S, Döcke WD, Reinke P, Volk HD, Krüger DH. *Human cytomegalovirus reactivation in bone-marrow-derived granulocyte/monocyte progenitor cells and mature monocytes.* Intervirology 1999; 42: 308-313.
77. Prosser SE, Orentas RJ, Jurgens L, Cohen EP, Hariharan S. *Recovery of BK virus large T-antigen-specific cellular immune response correlates with resolution of bk virus nephritis.* Transplantation 2008; 85: 185-192.
78. Pulendran B, Oh JZ, Nakaya H, Ravindran R, Kazmin DA. *Immunity to viruses: learning from successful human vaccines.* Immunol Rev 2013; 255: 243-255.
79. Randhawa PS, Finkelstein S, Scantlebury V, et al. *Human polyoma virus-associated interstitial nephritis in the allograft kidney.* Transplantation 1999; 67: 103-109.
80. Randhawa P, Vats A, Shapiro R. *Monitoring for polyomavirus BK and JC in urine: comparison of quantitative polymerase chain reaction with urine cytology.* Transplantation 2005; 79: 984-986.
81. Randhawa P, Pastrana DV, Zeng G, et al. *Commercially available immunoglobulins contain virus neutralizing antibodies against all major genotypes of polyomavirus BK.* Am J Transplant. 2015; 15: 1014-1020.
82. Razonable RR, Humar A. *AST Infectious Diseases Community of Practice. Cytomegalovirus in solid organ transplantation.* Am J Transplant 2013; 13 Suppl 4: 93-106.
83. Razonable RR, Åsberg A, Rollag H, et al. *Virologic suppression measured by a cytomegalovirus (CMV) DNA test calibrated to the World Health Organization international standard is predictive of CMV disease resolution in transplant recipients.* Clin Infect Dis 2013; 56: 1546-1553.
84. Reinke P, Fietze E, Ode-Hakim S, et al. *Late-acute renal allograft rejection and symptomless cytomegalovirus infection.* Lancet 1994; 344: 1737-1738.
85. Reinke P, Prösch S, Kern F, Volk HD. *Mechanisms of human cytomegalovirus (HCMV) (re)activation and its impact on organ transplant patients.* Transpl Infect Dis 1999; 1: 157-164.



86. Rieder F, Steininger C. *Cytomegalovirus vaccine: phase II clinical trial results*. Clin Microbiol Infect 2014; 20: 95-102.
87. Rubin LG, Levin MJ, Ljungman P, et al; Infectious Diseases Society of America. *2013 IDSA clinical practice guideline for vaccination of the immunocompromised host*. Clin Infect Dis 2014; 58: 309-318.
88. San-Juan R, Navarro D, García-Reyne A, et al; REIPI Network, Spain.; GESITRA Study Group from the SEIMC. *Effect of delaying prophylaxis against CMV in D+/R- solid organ transplant recipients in the development of CMV-specific cellular immunity and occurrence of late CMV disease*. J Infect 2015; 71: 561-570.
89. Sawinski D, Forde KA, Trofe-Clark J, et al. *Persistent BK Viremia Does Not Increase Intermediate-Term Graft Loss but Is Associated with De Novo Donor-Specific Antibodies*. J Am Soc Nephrol 2015; 26: 966-975.
90. Schachtner T, Müller K, Stein M, et al. *BKV-Specific Immunity Kinetics: A Predictor of Recovery from Polyomavirus BK-associated Nephropathy*. American Journal of Transplantation 2011; 11: 2443-2452.
91. Schachtner T, Stein M, Sefrin A, Babel N, Reinke P. *Inflammatory Activation and Recovering BKV-specific Immunity Characterize Patients with Self-limited BKV-reactivation*. Transplant Int 2014; 27: 290-301.
92. Schachtner T, Stein M, Babel N, Reinke P. *The Loss of BKV-specific Immunity from Pretransplantation to Posttransplantation Identifies Kidney Transplant Recipients at Increased Risk of BKV Replication*. Am J Transplant 2015a; 15: 2159-2169.
93. Schachtner T, Babel N, Reinke P. *Different Risk Profiles Characterize Patients with Early- and Late-onset BKV-replication*. Transplant Int 2015b; 28: 1081-1091.
94. Schachtner T, Stein M, Reinke P. *ABO Desensitization Affects Cellular Immunity and Infection Control after Renal Transplantation*. Transplant Int 2015c; 28: 1179-1194.
95. Schachtner T, Reinke P. *Zytomegalievirus nach Nierentransplantation: Klinische Problematik, Risikostratifizierung und neue Therapieansätze*. Der Nephrologe 2016a; 11: 396-402.
96. Schachtner T, Zaks M, Kahl A, Reinke P. *Simultaneous Pancreas/Kidney Transplantation Presents with Late-onset BKV-associated Nephropathy*. Nephrol Dial Transplant 2016b; 31: 1174-1182.
97. Schachtner T, Stein M, Reinke P. *Kidney Transplant Recipients after Nonrenal Solid Organ Transplantation Show Low Alloreactivity but an Increased Risk of Infections*. Transplant Int 2016c; 29: 1296-1306.
98. Schachtner T, Stein M, Reinke P. *CMV-specific T Cell Monitoring Offers Superior Risk Stratification of CMV-seronegative Kidney Transplant Recipients of a CMV-seropositive Donor*. Transplantation 2017a; e1825.
99. Schachtner T, Zaks M, Otto NM, Kahl A, Reinke P. *Simultaneous Pancreas/Kidney Transplant Recipients Are Predisposed to Symptomatic CMV-infection and Concomitant Infectious Complications*. Transpl Inf Dis 2017b; e12742.

100. Schachtner T, Stein M, Reinke P. *Sepsis after Renal Transplantation: Clinical, Immunological, and Microbiological Risk Factors*. *Transpl Inf Dis* 2017c; 19: e12695.
101. Schnitzler MA, Lowell JA, Hmiel SP, et al. *Cytomegalovirus disease after prophylaxis with oral ganciclovir in renal transplantation: the importance of HLA-DR matching*. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 780-785.
102. Schwarz A, Linnenweber-Held S, Heim A, Framke T, Haller H, Schmitt C. *Viral Origin, Clinical Course, and Renal Outcomes in Patients With BK Virus Infection After Living-Donor Renal Transplantation*. *Transplantation* 2016; 100: 844-853.
103. Seem DL, Lee I, Umscheid CA, Kuehnert MJ. *PHS guideline for reducing human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and hepatitis C virus transmission through organ transplantation*. *Public Health Rep* 2013; 128: 247-343.
104. Sood P, Senanayake S, Sujeet K, et al. *Donor and recipient BKV-specific IgG antibody and posttransplantation BKV infection: a prospective single-center study*. *Transplantation* 2013; 95: 896-902.
105. Vasudev B, Hariharan S, Hussain SA, Zhu YR, Bresnahan BA, Cohen EP. *BK virus nephritis: risk factors, timing, and outcome in renal transplant recipients*. *Kidney Int* 2005; 68: 1834-1839.
106. Vincenti F, Budde K, Merville P, et al. *Efficacy and Safety of ASP0113 versus Placebo in CMV-Seronegative Kidney Transplant Patients Receiving an Organ from a CMV-Seropositive Donor*. [abstract]. *Am J Transplant* 2017; 17 (suppl 3).
107. Vora NM, Basavaraju SV, Feldman KA, et al. *Raccoon rabies virus variant transmission through solid organ transplantation*. *JAMA* 2013; 310: 398-407.
108. Weist BJ, Schmueck M, Fuehrer H, Sattler A, Reinke P, Babel N. *The role of CD4(+) T cells in BKV-specific T cell immunity*. *Med Microbiol Immunol* 2014; 203: 395-408.
109. Weist BJ, Wehler P, El Ahmad L, et al. *A revised strategy for monitoring BKV-specific cellular immunity in kidney transplant patients*. *Kidney Int* 2015; 88: 1293-1303.
110. Witzke O, Hauser IA, Bartels M, Wolf G, Wolters H, Nitschke M; VIPP Study Group. *Valganciclovir prophylaxis versus preemptive therapy in cytomegalovirus-positive renal allograft recipients: 1-year results of a randomized clinical trial*. *Transplantation* 2012; 93: 61-68.

## **Danksagung**

Meine Danksagung wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité - Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

.....  
Datum

.....  
Unterschrift