

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Medizinische Fakultät der Universität Hamburg

I. Medizinische Klinik und Poliklinik

Prof. Dr. med. Ansgar W. Lohse

Zusammenhang zwischen Glomerulonephritis und Hepatitis E Virus Infektion

Publikationspromotion

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

vorgelegt von:

Sarah Tamanaei

aus Darmstadt

2023

Angenommen von der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 05.09.2023

Veröffentlicht mit Genehmigung der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Christian F. Krebs

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

Inhaltsverzeichnis



Artikel in Originalversion:

„Lack of Evidence for an Association between Previous HEV Genotype-3 Exposure and Glomerulonephritis in General“

1.	Einleitung	4
1.1	Entstehung des Studienkonzepts.....	4
1.2	Einführung in die Studienthematik	4
2.	Material und Methoden	6
3.	Ergebnisse	6
4.	Diskussion	10
5.	Abbildungen und Tabellen	12
6.	Abkürzungsverzeichnis	12
7.	Zusammenfassung in deutscher Sprache	13
8.	Zusammenfassung in englischer Sprache	14
9.	Literaturverzeichnis	15
10.	Danksagung	17
11.	Erklärung des Eigenanteils	18
12.	Lebenslauf	19
13.	Eidesstattliche Versicherung	20

Article

Lack of Evidence for an Association between Previous HEV Genotype-3 Exposure and Glomerulonephritis in General

Sven Pischke ^{1,2,*}, Sarah Tamanaei ^{1,†}, Maria Mader ¹, Julian Schulze zur Wiesch ^{1,2}, Christine Petersen-Benz ³, Munif Haddad ⁴, Marylyn M. Addo ^{1,2} , Tilman Schmidt ⁵, Tobias B. Huber ⁵, Christian F. Krebs ^{5,6}, Oliver M. Steinmetz ⁵, Jan E. Turner ⁵, Elion Hoxha ⁵ and Thomas Horvatits ^{1,2} 

¹ Department of Internal Medicine, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, 20251 Hamburg, Germany; sarah.tamanaei@stud.uke.uni-hamburg.de (S.T.); mari.mader@uke.de (M.M.); j.schulze-zur-wiesch@uke.de (J.S.z.W.); m.addo@uke.de (M.M.A.); t.horvatits@uke.de (T.H.)

² German Center for Infection Research (DZIF), Hamburg-Lübeck-Borstel Partner Sites, 20251 Hamburg, Germany

³ Geschäftsbereich Zentrales Controlling, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, 20251 Hamburg, Germany; c.petersen-benz@uke.de

⁴ Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, University Medical Center Eppendorf, 20251 Hamburg, Germany; m.haddad@uke.de

⁵ III Department of Medicine, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, 20251 Hamburg, Germany; til.schmidt@uke.de (T.S.); t.huber@uke.de (T.B.H.); c.krebs@uke.de (C.F.K.); osteinmetz@uke.de (O.M.S.); j.turner@uke.de (J.E.T.); e.hoxha@uke.de (E.H.)

⁶ Division of Translational Immunology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, 20251 Hamburg, Germany

* Correspondence: s.pischke@uke.de

† These authors contributed equally to this work.



Citation: Pischke, S.; Tamanaei, S.; Mader, M.; Schulze zur Wiesch, J.; Petersen-Benz, C.; Haddad, M.; Addo, M.M.; Schmidt, T.; Huber, T.B.; Krebs, C.F.; et al. Lack of Evidence for an Association between Previous HEV Genotype-3 Exposure and Glomerulonephritis in General. *Pathogens* **2022**, *11*, 18. <https://doi.org/10.3390/pathogens11010018>

Academic Editor: Lawrence S. Young

Received: 3 December 2021

Accepted: 17 December 2021

Published: 23 December 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Among numerous other immune-mediated diseases, glomerulonephritis has also been suspected to be an extrahepatic manifestation of HEV infection. In this prospective study, we tested 108 patients with glomerulonephritis and 108 age- and sex-matched healthy controls at the University Hospital Hamburg Eppendorf, Hamburg, Germany, for anti-HEV IgG (Wantai test) as a marker for previous HEV exposure. A total of 24 patients (22%) tested positive for anti-HEV IgG. Males tended to be more frequently anti-HEV IgG positive (29%) in comparison to females (16%). However, this does not reach statistical significance ($p = 0.07$). Anti-HEV IgG positive patients were older in comparison to negative patients (mean 53 vs. 45 years, $p = 0.05$). The kidney function seems to be slightly decreased in anti-HEV IgG positive patients in comparison to anti-HEV IgG negative patients basing on creatinine ($p = 0.04$) and glomerular filtration rate (GFR) ($p = 0.05$). Slightly higher values of bilirubin could be found in IgG positive patients ($p = 0.04$). Anti-HEV-IgG seropositivity rate (22%) in glomerulonephritis patients, did not differ significantly in comparison to an age- and sex-matched control cohort of healthy blood donors (31/108 positive, 29%). A total of 2/2 patients with membranoproliferative glomerulonephritis (MPGN) tested anti-HEV IgG positive ($p = 0.002$ in comparison to glomerulonephritis patients with other subtypes). In conclusion, our findings indicate that previous HEV exposure in a region where GT3 is endemic is not associated with glomerulonephritis in general. However, the subgroup of MPGN patients should be investigated in future studies. Furthermore, future studies are needed to investigate whether the observed association between anti-HEV IgG positivity and reduced GFR in glomerulonephritis patients is HEV associated or is an age-related effect.

Keywords: hepatitis E; glomerulonephritis; HEV; serology; extrahepatic

1. Introduction

Hepatitis E virus (HEV) infections have been shown to be associated with a large variety of assumed extrahepatic manifestations. Particularly immunological and neurological

disorders, but also renal affection has been assumed to be caused or triggered by HEV infections. However, a scientific proof of a causal relationship is still lacking.

One of these diseases, which has been associated with HEV infections and has been assumed to be an extrahepatic manifestation is glomerulonephritis. Glomerulonephritis is a renal disease caused by inflammatory autoimmune processes. The typical clinical signs of glomerulonephritis are hematuria, proteinuria, impaired urine output, and a reduced glomerular filtration rate (GFR) [1,2]. Glomerulonephritis has been shown to be potentially triggered by hepatitis C or B virus infections and is sometimes associated with cryoglobulinemia, a distinct immunological phenomenon [3]. In HCV- or HBV-induced glomerulonephritis deposits of immune complexes consisting of HCV-antigen, anti-HCV-IgG antibodies and a rheumatoid factor or HBV equivalents could be found and present the pathophysiological link of virus infection and kidney disease [4]. Similar mechanisms have been hypothesized for HEV infections and renal manifestations [5].

Large cohort studies investigating an association between HEV infections and renal diseases are still lacking. However, recently it has been described that patients with HEV infections have a reduced kidney function in comparison to patients with hepatitis A virus infections [6].

In line with this study, Kamar et al. investigated renal function in a French cohort of 51 solid-organ transplants before, during and after HEV infection. The glomerular filtration rate (GFR) significantly decreased in kidney and in liver transplant recipients during the acute and chronic phases of HEV infection. In five patients, renal biopsies were performed demonstrating histological features of membranoproliferative glomerulonephritis (MPGN) in two patients, relapses of IgA-nephropathy in two further patients and signs of nephroangiosclerosis in one patient. In 8 of these 51 patients (16%), no causative reason other than hepatitis E could be found for renal impairment [7].

Furthermore, glomerulonephritis associated with HEV infections has mainly been published in cases of European HEV genotype 3 infections. Only one single case of thrombocytopenia and membranous nephropathy has been described in a case of acute HEV genotype 1 infection [8]. All these previous reports about a possible association between HEV infections and glomerulonephritis are based on a retrospective case series or case reports. This has never been studied in a prospective study. Based on previous reports, it is assumed that glomerulonephritis might present an extrahepatic manifestation of HEV genotype 3 but not genotype 1 infections [5], but a standardized examination of a well characterized cohort is needed to clarify this issue.

In addition to glomerulonephritis, renal involvement of HEV infections in general has also been supported by studies investigating the urine of HEV-infected patients as well as experimentally HEV-infected monkeys and rabbits. Renal biopsies from these monkeys contained protein casts in the cavities of renal tubules and signs of severe inflammation [9].

Taken together, previous data suggested there might be an association between HEV infections and glomerulonephritis, although it is unclear whether they directly cause glomerulonephritis or if the presence of cryoglobulinemia is needed as a link between these two entities. However, no large cohort studies or prospective data have been published to date to support this presumed association. The aim of this prospective study is to investigate a possible association of previous HEV exposure (anti-HEV IgG positivity) with glomerulonephritis in a well-defined collective of glomerulonephritis patients.

2. Material and Methods

In this prospective study, all adult glomerulonephritis patients of the glomerulonephritis outpatient clinic of the University Hospital Hamburg Eppendorf between May 2021 and July 2021 have been asked to participate. A total of 108 of them gave written informed consent and were included in our study. Testing for anti-HEV IgG was performed by the Wantai ELISA (Wantai Beijing, China). Laboratory data as well as baseline characteristics, such as weight and height were assessed. The estimated glomerular filtration rate (eGFR) was calculated using MDRD equation.

To compare the anti-HEV IgG seroprevalence rate of glomerulonephritis patients with the seroprevalence in healthy adults, we performed a matched pair control analysis (matched for age and sex). For this purpose, 108 matched pairs were formed from stored serum samples from anonymous healthy blood donors without acute HEV infection and were analyzed.

This prospective study was reviewed and approved by the Ethics Committee of the Medical Council of Hamburg (WF-138/20). The study was performed according to the recommendations of the Declaration of Helsinki.

Statistical analysis was performed as follows: Continuous variables with a non-normal distribution were expressed as median and interquartile range (IQR). Groups were compared using the Mann–Whitney U test. Categorical variables were expressed as a number (%) and compared with Fisher’s exact test. *p* values less than 0.05 were considered statistically significant. Statistical analyses were performed using SPSS, version 21.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

3. Results

A total of 108 adult patients with proven glomerulonephritis have been studied. A total of 24 patients (22%) tested positive for anti-HEV IgG. Males tended to be more frequently anti-HEV IgG positive (29%) in comparison to females (16%); however, not reaching statistical significance ($p = 0.07$).

Anti-HEV IgG positive patients were significantly older in comparison to negative patients (mean 53 vs. 45 years, $p = 0.05$, Figure 1). A comparison of the variables of anti-HEV IgG positive and anti-HEV IgG negative glomerulonephritis patients revealed lower values for GFR ($p = 0.05$), albumin/creatinine ratio in urine ($p = 0.01$) and protein in urine ($p = 0.04$) while significantly higher values were found for creatinine ($p = 0.04$), and bilirubin ($p = 0.04$, Figure 1).

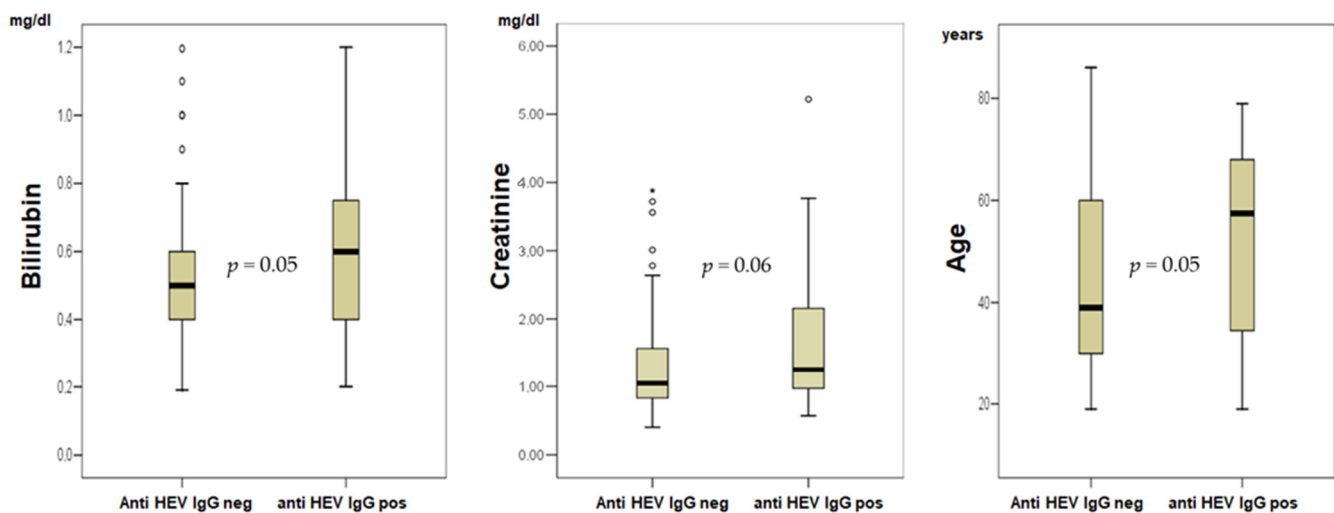


Figure 1. Distribution of bilirubin, creatinin and age in anti-HEV IgG positive and negative glomerulonephritis patients. *p*: *p*-Value.

The anti-HEV-IgG seropositivity rate (22%) in glomerulonephritis patients, did not differ significantly in comparison to an age- and sex-matched pair control cohort of healthy blood donors (31/108 positive, 28.7%).

Looking at the glomerulonephritis subgroups in detail, it is noticeable that 2/2 patients with MPGN (100%) were anti-HEV IgG positive, which is significantly more frequent than the anti-HEV seroprevalence in the healthy control cohort (29%, $p = 0.002$) or the rate in glomerulonephritis patients with other subtypes (22/106, $p = 0.002$).

Detailed patients’ characteristics are shown in Table 1.

Table 1. Characteristics of anti-HEV IgG positive and negative glomerulonephritis patients.

	IgG Positive (<i>n</i> = 24)	IgG Negative (<i>n</i> = 84)	<i>p</i> -Value (Values < 0.1 Are Shown) ns = Not Significant
Sex	15 male (63%)	36 male (43%)	ns
Age	52.5(19.0)	45.2(18.2)	0.05
Type of GN			
ANCA (<i>n</i> = 28)	7 (25%)	21 (75%)	ns
IgA (<i>n</i> = 23)	6 (26%)	17 (74%)	ns
Lupus (<i>n</i> = 33)	4 (12%)	29 (88%)	ns
MCGN (<i>n</i> = 9)	2 (22%)	7 (78%)	ns
MGN (<i>n</i> = 6)	1 (17%)	5 (83%)	ns
FSGS (<i>n</i> = 3)	0	3 (100%)	ns
MPGN (<i>n</i> = 2)	2 (100%)	0	0.002
Others (<i>n</i> = 4)	2 (50%)	2 (50%)	ns
Creatinine	1.6 (1.1)	1.3 (0.8)	0.06
GFR	59.7 (34.3)	69.5 (33.0)	0.08
GPT	25.9 (17.7)	22.7 (13.3)	ns
CRP	13.8 (26.4)	5.5 (3.7)	ns
Albumin	635.8 (1371.2)	1170.4 (2378.1)	0.07
Albumin/Creatinine	696.9 (1353.9)	1261.5 (1943.1)	0.01
Protein	996.1 (2063.9)	1836.2 (3699.5)	0.03
Bilirubin	0.6 (0.3)	0.5 (0.2)	0.05
Weight	73.2 (18.4)	84.2 (27.8)	0.09
Height	173.1 (7.6)	167.9 (18.4)	ns
Immunosuppression	16 (67%)	58 (69%)	ns
Dialysis	0	0	ns
Ongoing HBV or HCV infection	0	0	ns
Previous HBV or HCV infection	0	1 (anti-HBc positive)	ns
Immunosuppressive medication:			
Prednisolon	13	38	ns
Rituximab	3	11	ns
Azathioprine	4	15	ns
Mycophenolate mofetil	5	16	ns
Quensyl	4	26	ns
Belimumab	1	2	ns
Methotrexate	1	1	ns
Cyclophosphamide	1	3	ns
Ustekinumab	1	0	ns
Tacrolimus	0	4	ns
Cyclosporin	0	2	ns
Vedolizumab	0	1	ns

4. Discussion

Hepatitis E virus infections have been associated with various putative extrahepatic manifestations. While a causal relationship has been established for some of these conditions, it is still unclear whether HEV infections, similar to HBV or HCV infections, are associated with glomerulonephritis, or could even cause this immunological renal disease.

Our study is the first prospective, structured assessment of anti-HEV seroprevalence in a large cohort of well-defined glomerulonephritis patients ($n = 108$).

At first sight, the seroprevalence of 22% found here seems to be relevantly higher than the previously described seroprevalence rates of 15–17% in the German population [10,11]. However, an age- and sex-matched control cohort ($n = 108$) seems more appropriate to study this aspect, thus we identified such controls out of a cohort of 1000 blood donors. In this control cohort we found a seroprevalence of even 29%, so that glomerulonephritis patients in general cannot be considered as a risk group for previous HEV contact. These data highlight the relevance of age as risk factor for previous HEV exposure. Indeed, anti-HEV IgG positive patients in our study were older than negative patients (53 vs. 45 years, $p = 0.05$, Figure 1). This is not surprising, since with higher age and thus greater lapsed time, the risk of coming into contact with pathogens such as viruses is naturally greater than in young people.

While our study showed no association between glomerulonephritis in general and anti-HEV IgG positivity, in the subgroup of MPGN patients 2/2 were anti-HEV IgG positive (100%). However, the subgroup of MPGN patients is very small with two patients, so this finding should not be overestimated. While for the total group of glomerulonephritis patients no significant correlation to anti-HEV seroprevalence can be found, the rare subgroup of MPGN patients needs to be re-examined in a larger follow-up study. Thus, our study showed for the first time that previous HEV contact is not a relevant trigger for the development of glomerulonephritis in general, but for the subgroup of MPGN we cannot exclude it and actually cannot make valid statements for this subgroup yet. Since MPGN is a comparatively rare disease, a multicenter study is needed.

Additionally, the current study shows that there is an association between anti-HEV IgG positivity and reduced GFR. It should be kept in mind that the number of cases in this pilot study investigating a rare disease is not large, and thus the data should not be overestimated. Nevertheless, this is the first study showing reduced GFR in anti-HEV positive patients (Figure 1).

It has previously been shown that renal function is slightly deteriorated in the setting of acute HEV genotype 3 infection [6]. Furthermore, a complex interplay of immune cells and renal epithelium with acute kidney injury in HEV genotype 1 infections has been shown [12]. IFN- γ /chemokines and IL-18 are involved in renal damage in patients with acute HEV genotype 1 infections and thus the pathophysiological mechanism is immune modulated but not caused by renal damage by the virus itself. Unfortunately, comparable data for HEV genotype 3 still do not exist. Further pathophysiological insights and larger cohorts are needed to clarify if there is a causal relationship between previous HEV infection and impaired chronic kidney function, as demonstrated for the GFR in this present study, or if this effect is primarily caused by age. In summary, the relevance of deteriorated kidney function still stays unclear. Although cholemic nephropathy is a well described entity, we consider the borderline significant association of bilirubin and anti-HEV IgG positivity as potentially coincidental and think that this should not be overestimated. Notably, the anti-HEV IgG seroprevalence in dialysis patients has been studied by several groups, previously. However, conflicting results concerning the anti-HEV prevalence in this group of patients have been reported. A systematic review and meta-analysis, by Haffar et al., analyzed 31 studies from 17 countries [13]. The authors observed that HEV infections are more prevalent in individuals with need of dialysis, compared to those without. Of course, the limitations of a meta-analysis compared to an analysis of primary data must be considered. As none of our patients underwent dialysis, the present study does not contribute to the question of whether dialysis patients have an increased risk for HEV exposure.

Our study has several limitations that must be taken into account. First, the studied cohort ($n = 108$ and 108 controls) is not large. However, glomerulonephritis patients are rare and thus this number of cases is adequate for a prospective monocentric observation. Second, we used the Wantai assay, and other studies used other seroassays, limiting the

comparability of the data because of variability between assays. However, it should be noted that the Wantai assay is the most sensitive and well-established test in current studies.

Summarizing, our findings from the HEV genotype 3 endemic region indicate that previous contact with HEV seems not to be a relevant trigger of glomerulonephritis in general, but can perhaps be associated with the subgroup of MPGN patients. Furthermore, our study for the first time depicts an association between anti-HEV IgG positivity and the reduction of GFR in glomerulonephritis patients. Most probably this seems to be an age-related effect.

Author Contributions: Conceptualization, S.P., S.T., M.M.A., T.H., J.S.z.W.; methodology, S.T., M.M., M.H.; software, S.P. validation, J.S.z.W., E.H., J.E.T., O.M.S. and T.B.H.; formal analysis, S.P., E.H., T.H.; investigation, S.T., S.P., C.F.K.; resources, S.P., T.B.H., T.S.; data curation, T.S., S.P., C.P.-B.; writing—original draft preparation, S.P., S.T. and T.H.; writing—review and editing, S.P., S.T. and T.H. visualization, S.P.; supervision, S.P., T.H.; project administration, S.P.; funding acquisition, S.P. All authors have read and agree to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the German Centre for Infection Research, Grant Number DZIF TI 07.001, and the Else-Kröner-Fresenius-Stiftung, Grant Number 2019: EKFS10.

Institutional Review Board Statement: This prospective study was reviewed and approved by the Ethics Committee of the Medical Council of Hamburg (WF-138/20). The study was performed according to the recommendations of the Declaration of Helsinki.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Floege, J.; Amann, K. Primary glomerulonephritides. *Lancet* **2016**, *387*, 2036–2048. [[CrossRef](#)]
2. Segelmark, M.; Hellmark, T. Anti-glomerular basement membrane disease: An update on subgroups, pathogenesis and therapies. *Nephrol. Dial. Transplant. Off. Publ. Eur. Dial. Transpl. Assoc.—Eur. Ren. Assoc.* **2019**, *34*, 1826–1832. [[CrossRef](#)]
3. Rossi, D.; Sciascia, S.; Fenoglio, R.; Ferro, M.; Baldovino, S.; Kamgaing, J.; Ventrella, F.; Kalikatzaros, I.; Viziello, L.; Solfietti, L.; et al. Cryoglobulinemic glomerulonephritis: Clinical presentation and histological features, diagnostic pitfalls and controversies in the management. State of the art and the experience on a large monocentric cohort treated with B cell depletion therapy. *Minerva Med.* **2021**, *112*, 162–174. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. D’Amico, G. Renal involvement in hepatitis C infection: Cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Kidney Int.* **1998**, *54*, 650–671. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Pischke, S.; Hartl, J.; Pas, S.D.; Lohse, A.W.; Jacobs, B.C.; Van der Eijk, A.A. Hepatitis E virus: Infection beyond the liver? *J. Hepatol.* **2017**, *66*, 1082–1095. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Brehm, T.T.; Mazaheri, O.; Horvatits, T.; Lütgehetmann, M.; Schulze zur Wiesch, J.; Lohse, A.W.; Polywka, S.; Pischke, S. Lower Levels of Transaminases but Higher Levels of Serum Creatinine in Patients with Acute Hepatitis E in Comparison to Patients with Hepatitis A. *Pathogens* **2021**, *10*, 60. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Kamar, N.; Weclawiak, H.; Guilbeau-Frugier, C.; Legrand-Abravanel, F.; Cointault, O.; Ribes, D.; Esposito, L.; Cardeau-Desangles, I.; Guitard, J.; Sallusto, F.; et al. Hepatitis E virus and the kidney in solid-organ transplant patients. *Transplantation* **2012**, *93*, 617–623. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Ali, G.; Kumar, M.; Bali, S.; Wadhwa, W. Hepatitis E associated immune thrombocytopenia and membranous glomerulonephritis. *Indian J. Nephrol.* **2001**, *11*, 70–71.
9. Geng, Y.; Zhao, C.; Huang, W.; Harrison, T.J.; Zhang, H.; Geng, K.; Wang, Y. Detection and assessment of infectivity of hepatitis E virus in urine. *J. Hepatol.* **2016**, *64*, 37–43. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Faber, M.S.; Wenzel, J.J.; Jilg, W.; Thamm, M.; Hohle, M.; Stark, K. Hepatitis E virus seroprevalence among adults, Germany. *Emerg. Infect. Dis.* **2012**, *18*, 1654–1657. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Faber, M.; Willrich, N.; Schemmerer, M.; Rauh, C.; Kuhnert, R.; Stark, K.; Wenzel, J.J. Hepatitis E virus seroprevalence, seroincidence and seroreversion in the German adult population. *J. Viral Hepat.* **2018**, *25*, 752–758. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. El-Mokhtar, M.A.; Seddik, M.I.; Osman, A.; Adel, S.; Abdel Aziz, E.M.; Mandour, S.A.; Mohammed, N.; Zarzour, M.A.; Abdel-Wahid, L.; Radwan, E.; et al. Hepatitis E Virus Mediates Renal Injury via the Interaction between the Immune Cells and Renal Epithelium. *Vaccines* **2020**, *8*, 454. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Haffar, S.; Bazerbachi, F.; Leise, M.D.; Dillon, J.J.; Albright, R.C.; Murad, M.H.; Kamath, P.S.; Watt, K.D. Systematic review with meta-analysis: The association between hepatitis E seroprevalence and haemodialysis. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2017**, *46*, 790–799. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

1. Einleitung

1.1 Entstehung des Studienkonzepts

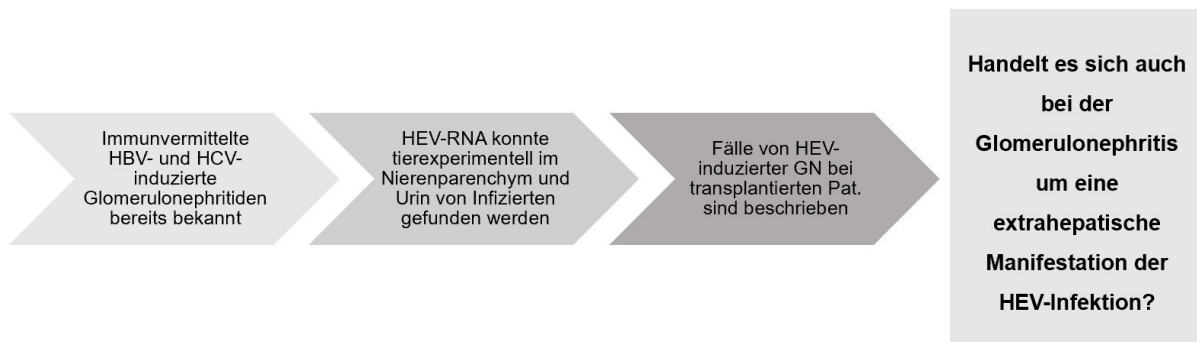


Abbildung 1 Schematische Darstellung des inhaltlichen Entstehungsprozesses [4,7,9,17,18]

1.2 Einführung in die Studienthematik

Hepatitis-E-Virus (HEV)-Infektionen wurden mit einer Reihe von mutmaßlichen „extrahepatischen Manifestationen“ in Zusammenhang gebracht. Insbesondere immunologische und neurologische Erkrankungen, aber auch renale Erkrankungen werden als Folge von HEV-Infektionen diskutiert. Ein wissenschaftlicher Nachweis für einen kausalen Zusammenhang ist jedoch bislang nicht erbracht worden.

Eines dieser Krankheitsbilder, die mit HEV-Infektionen assoziiert wurden und als extrahepatische Manifestation gelten, ist die Glomerulonephritis. Die Glomerulonephritis ist eine Nierenerkrankung, die durch entzündliche Autoimmunprozesse verursacht wird. Die typischen klinischen Anzeichen einer Glomerulonephritis sind Hämaturie, Proteinurie, verminderte Urinausscheidung und eine reduzierte glomeruläre Filtrationsrate (GFR) [1,2]. Es hat sich gezeigt, dass eine Glomerulonephritis möglicherweise durch Hepatitis-C- oder -B-Virusinfektionen (HBV, HCV) ausgelöst werden kann und manchmal mit einer Kryoglobulinämie einhergeht [3]. Kryoglobuline sind Antikörper, die im Rahmen einer überschießenden Immunantwort gebildet werden und bei Kälte aggregieren. Es konnte bereits gezeigt werden, dass zusätzlich zu HBV- und HCV-Infektionen auch ein Zusammenhang zwischen Kryoglobulinämie und Hepatitis-E-Virus (HEV) Infektionen besteht [14,15,16]. Bei HCV- oder HBV-induzierter Glomerulonephritis konnten Ablagerungen von Immunkomplexen identifiziert werden, die neben diversen Immunglobulinen auch HCV-Antigen, Anti-HCV-IgG-Antikörpern und HBV-Anteile enthielten. So dass für diese beiden Infektionen, im Gegensatz zu HEV, eine pathophysiologische Verbindung zwischen Virusinfektion und Nierenerkrankung als erwiesen angesehen wird [4]. Vergleichbare Mechanismen wurden für HEV-Infektionen und Nierenmanifestationen vermutet, werden jedoch noch diskutiert [5].

Große Kohortenstudien, die einen Zusammenhang zwischen HEV-Infektionen und Nierenerkrankungen untersuchen, stehen bislang noch aus. Kürzlich wurde jedoch beschrieben, dass Patienten mit HEV-Infektionen im Vergleich zu Patienten mit Hepatitis-A-Virus-Infektionen eine reduzierte Nierenfunktion aufweisen [6].

In Übereinstimmung mit dieser Studie untersuchten Kamar et al. die Nierenfunktion in einer französischen Kohorte von 51 Organtransplantierten, in der Zeit während und nach einer HEV-Infektion. Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) nahm bei Nieren- und

Lebertransplantatempfängern während der akuten und chronischen Phase der HEV-Infektion deutlich ab. Bei fünf Patienten wurden Nierenbiopsien durchgeführt, die bei zwei Patienten histologische Merkmale einer membranproliferativen Glomerulonephritis (MPGN), bei zwei weiteren Patienten Rezidive einer IgA-Nephropathie und bei einem Patienten Anzeichen einer Nephroangiosklerose zeigten. Bei 8 dieser 51 Patienten (16 %) konnte keine andere Ursache als Hepatitis E für die Nierenschädigung gefunden werden [7].

Ein Zusammenhang zwischen Glomerulonephritiden und HEV-Infektionen wurde bislang hauptsächlich für den europäischen HEV-Genotyp-3 vermutet [5]. Nur ein einziger Fall von Thrombozytopenie und membranöser Nephropathie wurde bei einer akuten HEV-Genotyp-1-Infektion beschrieben [8]. Alle diese bisherigen Berichte über einen möglichen Zusammenhang zwischen HEV-Infektionen und Glomerulonephritis beruhen auf kleinen retrospektiven Fallserien oder einzelnen Fallberichten. Dies wurde noch nie in einer prospektiven Studie untersucht. Aufgrund früherer Berichte wird angenommen, dass die Glomerulonephritis eine extrahepatische Manifestation von HEV-Infektionen des Genotyps 3, nicht aber des Genotyps 1 darstellen könnte [5]. Die standardisierte Untersuchung einer gut charakterisierten Kohorte ist erforderlich, um diese Frage zu klären.

Neben der Glomerulonephritis wurde die renale Beteiligung von HEV-Infektionen im Allgemeinen auch durch Studien belegt, in denen der Urin von HEV-infizierten Patienten sowie von experimentell HEV-infizierten Affen und Kaninchen untersucht wurde. Nierenbiopsien von diesen Affen enthielten Eiweißabdrücke in den Hohlräumen der Nierentubuli und Anzeichen einer schweren Entzündung [9,17].

Insgesamt deuten frühere Daten darauf hin, dass es einen Zusammenhang zwischen HEV-Infektionen und Glomerulonephritis geben könnte, obwohl unklar ist, ob sie direkt eine Glomerulonephritis verursachen oder, ob das Vorhandensein einer Kryoglobulinämie als Bindeglied zwischen diesen beiden Entitäten erforderlich ist. Bislang wurden jedoch keine großen Kohortenstudien oder prospektiven Daten veröffentlicht, die diesen vermuteten Zusammenhang belegen. Ziel dieser prospektiven Studie im Rahmen einer zahnmedizinischen Dissertation ist es, einen möglichen Zusammenhang zwischen einer früheren HEV-Exposition (Anti-HEV-IgG-Positivität) und einer Glomerulonephritis in einem genau definierten Kollektiv von Glomerulonephritis-Patienten zu untersuchen.

2. Material und Methoden

In dieser prospektiven Studie wurden alle erwachsenen Glomerulonephritis-Patienten der Glomerulonephritis-Ambulanz des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf zwischen Mai 2021 und Juli 2021 um ihre Teilnahme gebeten. Insgesamt 108 von ihnen gaben eine schriftliche Einverständniserklärung ab und wurden in unsere Studie aufgenommen. Der Test auf Anti-HEV-IgG wurde mit dem Wantai-ELISA (Wantai Beijing, China) durchgeführt. Die Labordaten sowie Ausgangsdaten wie Gewicht und Größe wurden erfasst. Die geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) wurde anhand der MDRD-Gleichung berechnet.

Um die Anti-HEV-IgG-Seroprävalenzrate von Glomerulonephritis-Patienten mit der Seroprävalenz bei gesunden Erwachsenen zu vergleichen, wurde eine „Matched-Pair-Kontrollanalyse“ durchgeführt (abgestimmt auf Alter und Geschlecht). Zu diesem Zweck wurden 108 „Matched Pairs“ aus gelagerten Serumproben von anonymen gesunden Blutspendern ohne akute HEV-Infektion analysiert.

Diese prospektive Studie wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg geprüft und genehmigt (WF-138/20). Die Studie wurde in Übereinstimmung mit den Empfehlungen der Deklaration von Helsinki durchgeführt.

Die statistische Analyse wurde wie folgt durchgeführt: Kontinuierliche Variablen mit einer nicht-normalen Verteilung wurden als Median und Interquartilsbereich (IQR) angegeben. Die Gruppen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test verglichen. Kategorische Variablen wurden als Anzahl (%) ausgedrückt und mit dem Chi-Quadrat-Test (Fisher-Exact-Test) verglichen. p-Werte von weniger als 0,05 wurden als statistisch signifikant angesehen. Die statistischen Analysen wurden mit SPSS, Version 21.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) durchgeführt.

3. Ergebnisse

Es wurden 108 erwachsene Patienten mit nachgewiesener Glomerulonephritis untersucht. Insgesamt 24 Patienten (22 %) wurden positiv auf Anti-HEV-IgG getestet. Männer waren tendenziell häufiger Anti-HEV-IgG-positiv (29 %) als Frauen (16 %); dies erreichte jedoch keine statistische Signifikanz ($p = 0,07$).

Anti-HEV-IgG-positive Patienten waren im Vergleich zu negativen Patienten deutlich älter (Mittelwert 53 vs. 45 Jahre, $p = 0,05$, Abbildung 4). Ein Vergleich der Variablen von Anti-HEV-IgG-positiven und Anti-HEV-IgG-negativen Glomerulonephritis-Patienten ergab bei der Gruppe der Anti-HEV-IgG-positiven Patienten niedrigere Werte für GFR ($p = 0,08$), für das Albumin/Kreatinin-Verhältnis im Urin ($p = 0,01$) und für Protein im Urin ($p = 0,04$), während signifikant höhere Werte für Kreatinin ($p = 0,04$, Abbildung 3) und Bilirubin ($p = 0,04$, Abbildung 2) gefunden wurden.

Die Anti-HEV-IgG-Seropositivitätsrate (22 %) bei Glomerulonephritis-Patienten unterschied sich nicht signifikant von einer alters- und geschlechtsgleichen Kontrollkohorte gesunder Blutspender (31/108 positiv, 28,7 %).

Betrachtet man die Glomerulonephritis-Untergruppen im Einzelnen, so fällt auf, dass 2/2 Patienten mit MPGN (100 %) Anti-HEV-IgG-positiv waren, was deutlich häufiger ist als die Anti-HEV-Seroprävalenz in der gesunden Kontrollkohorte (29 %, $p = 0,002$) oder die Rate bei Glomerulonephritis-Patienten mit anderen Subtypen (22/106, $p = 0,002$).

Die detaillierten Patientenmerkmale sind in folgender Tabelle aufgeführt:

Tabelle 1 Merkmale der Anti-HEV-IgG-positiven und negativen Glomerulonephritis-Patienten

	IgG positiv (n = 24)	IgG negativ (n = 84)	p-Wert (es werden Werte < 0,1 angezeigt) ns = nicht signifikant
Geschlecht	15 männlich (63%)	36 männlich (43%)	ns
Alter	52.5(19.0)	45.2(18.2)	0.05
GN-Subtyp			
ANCA (n = 28)	7 (25%)	21 (75%)	ns
IgA (n = 23)	6 (26%)	17 (74%)	ns
Lupus (n = 33)	4 (12%)	29 (88%)	ns
MCGN (n = 9)	2 (22%)	7 (78%)	ns
MGN (n = 6)	1 (17%)	5 (83%)	ns
FSGS (n = 3)	0	3 (100%)	ns
MPGN (n = 2)	2 (100%)	0	0.002
Sonstige (n = 4)	2 (50%)	2 (50%)	ns
Kreatinin	1.6 (1.1)	1.3 (0.8)	0.06
GFR	59.7 (34.3)	69.5 (33.0)	0.08
GPT	25.9 (17.7)	22.7 (13.3)	ns
CRP	13.8 (26.4)	5.5 (3.7)	ns
Albumin	635.8 (1371.2)	1170.4 (2378.1)	0.07
Albumin/Kreatinin	696.9 (1353.9)	1261.5 (1943.1)	0.01
Protein	996.1 (2063.9)	1836.2 (3699.5)	0.03
Bilirubin	0.6 (0.3)	0.5 (0.2)	0.05
Gewicht	73.2 (18.4)	84.2 (27.8)	0.09
Größe	173.1 (7.6)	167.9 (18.4)	ns
Immunsuppression	16 (67%)	58 (69%)	ns
Dialyse	0	0	ns
Aktuelle HBV od. HCV Infektion	0	0	ns
Frühere HBV od. HCV Infektion	0	1 (anti-HBc positiv)	ns
Immunsuppressive Medikation:			
Prednisolon	13	38	ns
Rituximab	3	11	ns
Azathioprin	4	15	ns
Mycophenolat mofetil	5	16	ns
Quensyl	4	26	ns
Belimumab	1	2	ns
Methotrexat	1	1	ns
Cyclophosphamid	1	3	ns
Ustekinumab	1	0	ns
Tacrolimus	0	4	ns
Cyclosporin	0	2	ns
Vedolizumab	0	1	ns

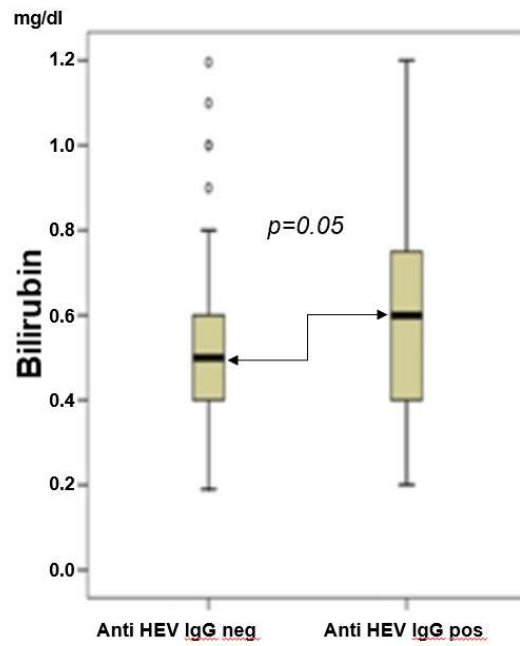


Abbildung 2 Verteilung von Bilirubin bei Anti-HEV-IgG-positiven und negativen Glomerulonephritis-Patienten

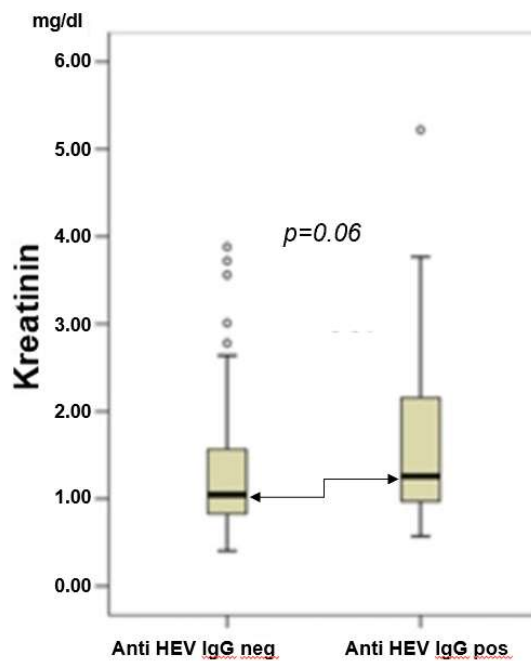


Abbildung 3 Verteilung von Kreatinin bei Anti-HEV-IgG-positiven und negativen Glomerulonephritis-Patienten

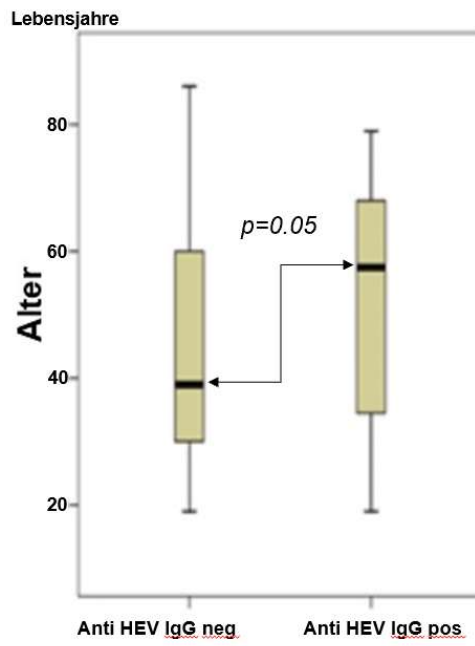


Abbildung 4 Verteilung des Alters bei Anti-HEV-IgG-positiven und negativen Glomerulonephritis-Patienten

4. Diskussion

Hepatitis-E-Virus-Infektionen sind mit verschiedenen potenziellen extrahepatischen Manifestationen in Verbindung gebracht worden. Während für einige dieser Erkrankungen ein kausaler Zusammenhang festgestellt wurde, ist noch unklar, ob HEV-Infektionen, ähnlich wie HBV- oder HCV-Infektionen, mit Glomerulonephritis assoziiert sind oder diese immunologische Nierenerkrankung sogar verursachen könnten. Bei unserer Studie handelt es sich um die erste prospektive, strukturierte Bewertung der Anti-HEV-Seroprävalenz in einer großen Kohorte von Patienten mit gut definierter Glomerulonephritis (n = 108).

Auf den ersten Blick scheint die hier gefundene Seroprävalenz von 22 % deutlich höher zu sein als die zuvor beschriebenen Seroprävalenzraten von 15-17 % in der deutschen Bevölkerung [10,11]. Eine alters- und geschlechtsangepasste Kontrollkohorte (n = 108) scheint jedoch geeigneter zu sein, um diesen Aspekt zu untersuchen, weshalb wir solche Kontrollen aus einer Kohorte von 1000 Blutspendern identifizierten. In dieser Kontrollgruppe fanden wir sogar eine Seroprävalenz von 29 %, so dass Glomerulonephritis-Patienten im Allgemeinen nicht als Risikogruppe für einen früheren HEV-Kontakt angesehen werden können. Diese Daten unterstreichen die Bedeutung des Alters als Risikofaktor für eine frühere HEV-Exposition. In der Tat waren die Anti-HEV-IgG-positiven Patienten in unserer Studie älter als die negativen Patienten (53 vs. 45 Jahre, p = 0,05, Abbildung 4). Dies ist nicht verwunderlich, da mit höherem Alter und damit längerer Verweildauer das Risiko, mit Krankheitserregern wie Viren in Kontakt zu kommen, naturgemäß größer ist als bei jungen Menschen.

Während unsere Studie keinen Zusammenhang zwischen Glomerulonephritis im Allgemeinen und Anti-HEV-IgG-Positivität zeigte, waren in der Untergruppe der MPGN-Patienten 2/2 Anti-HEV-IgG-positiv (100%). Allerdings ist die Untergruppe der MPGN-Patienten mit zwei Patienten sehr klein, so dass dieses Ergebnis nicht überbewertet werden sollte. Während für die Gesamtgruppe der Glomerulonephritis-Patienten kein signifikanter Zusammenhang mit der Anti-HEV-Seroprävalenz festgestellt werden kann, muss die seltene Untergruppe der MPGN-Patienten in einer größeren Folgestudie erneut untersucht werden.

Unsere Studie und somit diese Dissertation hat somit erstmals gezeigt, dass ein früherer HEV-Kontakt kein relevanter Auslöser für die Entwicklung einer Glomerulonephritis im Allgemeinen ist, aber für die Untergruppe der MPGN können wir dies nicht ausschließen. Für diese Untergruppe können wir aktuell noch keine gültigen Aussagen machen. Da es sich bei der MPGN um eine vergleichsweise seltene Erkrankung handelt, ist eine multizentrische Studie erforderlich, um valide Daten zu generieren.

Darüber hinaus zeigt die aktuelle Studie, dass es einen Zusammenhang zwischen Anti-HEV-IgG-Positivität und reduzierter GFR gibt. Es ist zu bedenken, dass die Zahl der Fälle in dieser Pilotstudie, in der eine sehr seltene Krankheit untersucht wurde, nicht sehr groß ist, so dass die Daten nicht überbewertet werden sollten. Dennoch ist dies die erste Studie, die eine reduzierte GFR bei Anti-HEV-positiven Patienten zeigt (

Tabelle 1).

Es wurde bereits gezeigt, dass sich die Nierenfunktion im Rahmen einer akuten HEV-Genotyp-3-Infektion leicht verschlechtert [6]. Außerdem wurde ein komplexes Zusammenspiel von Immunzellen und Nierenepithel mit akuter Nierenschädigung bei HEV-Genotyp-1-Infektionen nachgewiesen [12]. IFN- γ /Chemokine und IL-18 sind an der Nierenschädigung bei Patienten mit akuten HEV-Genotyp-1-Infektionen beteiligt, so dass der pathophysiologische Mechanismus scheinbar immunmoduliert ist, aber nicht durch eine Nierenschädigung durch

das Virus selbst verursacht wird. Leider gibt es noch keine vergleichbaren Daten für HEV-Genotyp 3. Weitere pathophysiologische Erkenntnisse und größere Kohorten sind erforderlich, um zu klären, ob es einen kausalen Zusammenhang zwischen einer früheren HEV-Infektion und einer verschlechterten chronischen Nierenfunktion gibt, wie in der vorliegenden Studie für die GFR gezeigt wurde, oder ob dieser Effekt in erster Linie durch das Alter verursacht wird.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Relevanz einer verschlechterten Nierenfunktion nach wie vor unklar ist. Obwohl die choleämische Nephropathie eine gut beschriebene Entität ist, halten wir den knapp signifikanten Zusammenhang zwischen Bilirubin und Anti-HEV-IgG-Positivität für zufällig und denken, dass dieser nicht überbewertet werden sollte. Insbesondere die Anti-HEV-IgG-Seroprevalenz bei Dialysepatienten wurde bereits von mehreren Gruppen untersucht. Es wurden jedoch widersprüchliche Ergebnisse bezüglich der Anti-HEV-Prävalenz in dieser Patientengruppe berichtet. In einer systematischen Übersichtsarbeit und Meta-Analyse von Haffar et al. wurden 31 Studien aus 17 Ländern analysiert [13]. Die Autoren stellten fest, dass HEV-Infektionen bei dialysepflichtigen Personen häufiger vorkommen als bei nicht dialysepflichtigen. Natürlich müssen die Einschränkungen einer Meta-Analyse im Vergleich zu einer Analyse von Primärdaten berücksichtigt werden. Da sich keiner unserer Patienten einer Dialyse unterzog, trägt die vorliegende Studie nicht zu der Frage bei, ob Dialysepatienten ein erhöhtes Risiko für eine HEV-Exposition haben.

Unsere Studie hat mehrere Einschränkungen, die berücksichtigt werden müssen. Erstens ist die untersuchte Kohorte (n = 108 und 108 Kontrollen) nicht sehr groß. Glomerulonephritis-Patienten sind jedoch selten, so dass diese Fallzahl für eine prospektive monozentrische Beobachtung adäquat ist. Zweitens haben wir den Wantai-Test verwendet, während in anderen Studien andere Seroassays zum Einsatz kamen, was die Vergleichbarkeit der Daten aufgrund der Variabilität zwischen den Tests einschränkt. Es ist jedoch anzumerken, dass der Wantai-Assay den aktuellen Studien zufolge der empfindlichste und am besten etablierte Test ist.

Zusammenfassend deuten unsere Ergebnisse aus dem HEV-Genotyp-3-Endemiegebiet darauf hin, dass ein früherer Kontakt mit HEV kein relevanter Auslöser für Glomerulonephritis im Allgemeinen zu sein scheint, aber möglicherweise mit der Untergruppe der MPGN-Patienten in Verbindung gebracht werden kann. Darüber hinaus zeigt unsere Studie zum ersten Mal einen Zusammenhang zwischen Anti-HEV-IgG-Positivität und der Verminderung der GFR bei Glomerulonephritis-Patienten. Wahrscheinlich handelt es sich dabei um einen altersbedingten Effekt.

5. Abbildungen und Tabellen

Abbildung 1 Schematische Darstellung des inhaltlichen Entstehungsprozesses	4
Abbildung 2 Verteilung von Bilirubin bei Anti-HEV-IgG-positiven und negativen Glomerulonephritis-Patienten	8
Abbildung 3 Verteilung von Kreatinin bei Anti-HEV-IgG-positiven und negativen Glomerulonephritis-Patienten	8
Abbildung 4 Verteilung des Alters bei Anti-HEV-IgG-positiven und negativen Glomerulonephritis-Patienten	9
Tabelle 1 Merkmale der Anti-HEV-IgG-positiven und negativen Glomerulonephritis- Patienten	7

6. Abkürzungsverzeichnis

ANCA:	Anti-Neutrophile cytoplasmatische Antikörper
CRP:	C-reaktives Protein
FSGS:	Fokal segmentale Glomerulosklerose
GFR:	Glomeruläre Filtrationsrate
GN:	Glomerulonephritis
GPT:	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HBV:	Hepatitis B Virus
HCV:	Hepatitis C Virus
HEV:	Hepatitis E Virus
IFN- γ :	Interferon-gamma
IgA:	Immunglobulin A (Subtyp IgA Nephropathie in Tabelle 1)
IgG:	Immunglobulin G
IL-18:	Interleukin 18
MCGN:	Minimal-Change-Glomerulonephritis
MDRD:	Modification of Diet in Renal Diseases (Gleichung zur Berechnung der GFR)
MGN:	Membranöse Glomerulonephritis
MPGN:	Membranoproliferative Glomerulonephritis
RNA:	Ribonukleinsäure

7. Zusammenfassung in deutscher Sprache

Neben zahlreichen anderen immunvermittelten Erkrankungen steht auch die Glomerulonephritis im Verdacht, eine extrahepatische Manifestation der HEV-Infektion zu sein. In dieser prospektiven Studie wurden 108 Patienten mit Glomerulonephritis und 108 alters- und geschlechtsgleiche gesunde Kontrollen am Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf auf Anti-HEV-IgG (Wantai-Test) als Marker für eine frühere HEV-Exposition getestet. Insgesamt 24 Patienten (22 %) unserer Hamburger Kohorte wurden positiv auf Anti-HEV-IgG getestet. Tendenziell waren Männer häufiger Anti-HEV-IgG-positiv (29 %) als Frauen (16 %). Allerdings erreichte dies keine statistische Signifikanz ($p = 0,07$). Anti-HEV-IgG-positive Patienten waren im Vergleich zu negativen Patienten älter (Mittelwert 53 vs. 45 Jahre, $p = 0,05$). Die Nierenfunktion scheint bei Anti-HEV-IgG-positiven Patienten im Vergleich zu Anti-HEV-IgG-negativen Patienten auf der Grundlage des Kreatininwertes ($p = 0,04$) und der glomerulären Filtrationsrate (GFR) ($p = 0,05$) leicht beeinträchtigt zu sein. Bei den IgG-positiven Patienten wurden etwas höhere Bilirubinwerte festgestellt ($p = 0,04$). Die Anti-HEV-IgG-Seropositivitätsrate (22 %) bei Glomerulonephritis-Patienten unterschied sich nicht signifikant im Verhältnis zu einer alters- und geschlechtsgleichen Kontrollkohorte von gesunden Blutspendern (31/108 positiv, 29 %). Bei insgesamt 2/2 Patienten (100%) mit membranoproliferativer Glomerulonephritis (MPGN) wurde Anti-HEV-IgG positiv getestet ($p = 0,002$ im Vergleich zu Glomerulonephritis-Patienten mit anderen Subtypen). Zusammenfassend deuten unsere Ergebnisse darauf hin, dass eine frühere HEV-Exposition in einer Region, in der GT3 endemisch ist, nicht mit Glomerulonephritis im Allgemeinen assoziiert ist. Allerdings sollte die Untergruppe der MPGN-Patienten in künftigen Studien untersucht werden. Darüber hinaus sind noch weitere Studien erforderlich, um zu untersuchen, ob der beobachtete Zusammenhang zwischen Anti-HEV-IgG-Positivität und verringerter GFR bei Glomerulonephritis-Patienten mit HEV assoziiert ist oder ein altersbedingter Effekt ist.

8. Zusammenfassung in englischer Sprache

Among numerous other immune-mediated diseases, glomerulonephritis has also been suspected to be an extrahepatic manifestation of HEV infection. In this prospective study, we tested 108 patients with glomerulonephritis and 108 age- and sex-matched healthy controls at the University Hospital Hamburg Eppendorf, Hamburg, Germany, for anti-HEV IgG (Wantai test) as a marker for previous HEV exposure. A total of 24 patients (22%) tested positive for anti-HEV IgG. Males tended to be more frequently anti-HEV IgG positive (29%) in comparison to females (16%). However, this does not reach statistical significance ($p = 0.07$). Anti-HEV IgG positive patients were older in comparison to negative patients (mean 53 vs. 45 years, $p = 0.05$). The kidney function seems to be slightly decreased in anti-HEV IgG positive patients in comparison to anti-HEV IgG negative patients basing on creatinine ($p = 0.04$) and glomerular filtration rate (GFR) ($p = 0.05$). Slightly higher values of bilirubin could be found in IgG positive patients ($p = 0.04$). Anti-HEV-IgG seropositivity rate (22%) in glomerulonephritis patients, did not differ significantly in comparison to an age- and sex-matched control cohort of healthy blood donors (31/108 positive, 29%). A total of 2/2 patients with membranoproliferative glomerulonephritis (MPGN) tested anti-HEV IgG positive ($p = 0.002$ in comparison to glomerulonephritis patients with other subtypes). In conclusion, our findings indicate that previous HEV exposure in a region where GT3 is endemic is not associated with glomerulonephritis in general. However, the subgroup of MPGN patients should be investigated in future studies. Furthermore, future studies are needed to investigate whether the observed association between anti-HEV IgG positivity and reduced GFR in glomerulonephritis patients is HEV associated or is an age-related effect.

9. Literaturverzeichnis

1. **Floege J**; Amann K, Primary glomerulonephritides. *Lancet* 2016, 387, 2036–2048.
2. **Segelmark M**; Hellmark T, Anti-glomerular basement membrane disease: An update on subgroups, pathogenesis and therapies. *Nephrol. Dial. Transplant. Off. Publ. Eur. Dial. Transpl. Assoc.—Eur. Ren. Assoc.* 2019, 34, 1826–1832.
3. **Rossi D**; Sciascia S.; Fenoglio R; Ferro M; Baldovino S; Kamgaing J; Ventrella F; Kalikatzaros I; Viziello L; Solfiatti L; et al. Cryoglobulinemic glomerulonephritis: Clinical presentation and histological features, diagnostic pitfalls and controversies in the management. State of the art and the experience on a large monocentric cohort treated with B cell depletion therapy. *Minerva Med.* 2021, 112, 162–174.
4. **D’Amico G**; Renal involvement in hepatitis C infection: Cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Kidney Int.* 1998, 54, 650–671.
5. **Pischke S**; Hartl, J.; Pas, S.D.; Lohse, A.W.; Jacobs, B.C.; Van der Eijk, A.A. Hepatitis E virus: Infection beyond the liver? *J. Hepatol.* 2017, 66, 1082–1095.
6. **Brehm T.T**; Mazaheri, O.; Horvatits, T.; Lütgehetmann, M.; Schulze zur Wiesch, J.; Lohse, A.W.; Polywka, S.; Pischke, S. Lower Levels of Transaminases but Higher Levels of Serum Creatinine in Patients with Acute Hepatitis E in Comparison to Patients with Hepatitis A. *Pathogens* 2021, 10, 60.
7. **Kamar N**; Weclawiak, H.; Guilbeau-Frugier, C.; Legrand-Abravanel, F.; Cointault, O.; Ribes, D.; Esposito, L.; Cardeau-Desangles, I.; Guitard, J.; Sallusto, F.; et al. Hepatitis E virus and the kidney in solid-organ transplant patients. *Transplantation* 2012, 93, 617–623.
8. **Ali G**; Kumar, M.; Bali, S.; Wadhwa, W. Hepatitis E associated immune thrombocytopaenia and membranous glomerulonephritis. *Indian J. Nephrol.* 2001, 11, 70–71.
9. **Geng Y**; Zhao, C.; Huang, W.; Harrison, T.J.; Zhang, H.; Geng, K.; Wang, Y. Detection and assessment of infectivity of hepatitis E virus in urine. *J. Hepatol.* 2016, 64, 37–43.
10. **Faber M.S**; Wenzel, J.J.; Jilg, W.; Thamm, M.; Hohle, M.; Stark, K. Hepatitis E virus seroprevalence among adults, Germany. *Emerg. Infect. Dis.* 2012, 18, 1654–1657.
11. **Faber M**; Willrich, N.; Schemmerer, M.; Rauh, C.; Kuhnert, R.; Stark, K.; Wenzel, J.J. Hepatitis E virus seroprevalence, seroincidence and seroreversion in the German adult population. *J. Viral Hepat.* 2018, 25, 752–758.
12. **El-Mokhtar M.A**; Seddik, M.I.; Osman, A.; Adel, S.; Abdel Aziz, E.M.; Mandour, S.A.; Mohammed, N.; Zarzour, M.A.; Abdel-Wahid, L.; Radwan, E.; et al. Hepatitis E Virus Mediates Renal Injury via the Interaction between the Immune Cells and Renal Epithelium. *Vaccines* 2020, 8, 454.
13. **Haffar S**; Bazerbachi, F.; Leise, M.D.; Dillon, J.J.; Albright, R.C.; Murad, M.H.; Kamath, P.S.; Watt, K.D. Systematic review with meta-analysis: The association between hepatitis E seroprevalence and haemodialysis. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2017, 46, 790–799.
14. **Pischke S**; Behrendt P Manns MP Wedemeyer H
HEV-associated cryoglobulinaemia and extrahepatic manifestations of hepatitis E. *Lancet Infect Dis.* 2014; 14: 678-679

15. **Pischke S**; Polywka S, Haag F, Iking-Konert C, Sterneck M, Lütgehetmann M, Dammermann W, Lüth S, Schirmer JH. Association of hepatitis E virus and essential cryoglobulinemia? *J. Clin Virol.* 2015 Jun;67:23-4.
16. **Horvatits T**; Schulze zur Wiesch, J.; Polywka, S.; Buescher, G.; Lütgehetmann, M.; Hussey, E.; Horvatits, K.; Peine, S.; Haag, F.; Addo, M.M.; Lohse, A.W.; Weiler-Normann, C.; Pischke, S. Significance of Anti-Nuclear Antibodies and Cryoglobulins in Patients with Acute and Chronic HEV Infection. *Pathogens* 2020, 9, 755
17. **Wang L**; Xia J, Wang L, Wang Y, Experimental infection of rabbits with genotype 3 hepatitis E virus produced both chronicity and kidney injury *Gut* 2017;66:561-562.
18. **Taton B**; Moreau K, Lepreux S, Bachelet T, Trimoulet P, De Ledinghen V, Pommereau A, Ronco P, Kamar N, Merville P, Couzi L. Hepatitis E virus infection as a new probable cause of de novo membranous nephropathy after kidney transplantation. *Transpl Infect Dis.* 2013 Dec;15(6):E211-5

10. Danksagung

Mein Dank gilt allen Beteiligten an dieser Publikationspromotion und hier vor allem den folgenden Personen:

Herr PD. Dr. Pischke

Herr Dr. med. Haddad

Frau Mader

Die Kollegen der Nephrologie der III. Med. Klinik und Poliklinik

Den Mitarbeiterinnen des Ambulanzentrums

Besonders danken möchte ich Herrn PD Dr. Sven Pischke für die hervorragende und stets zuverlässige Betreuung und der Überlassung dieses Promotionsthemas danken. Mit seiner Expertise, Passion und menschlich herausragenden Art hat er das Projekt bestens unterstützt und gefördert.

Meinen Eltern, die mir meinen gesamten akademischen Werdegang ermöglicht und mir den Weg geebnet haben, möchte ich den größten Dank aussprechen. Danke auch an meine Freunde, die mich durch das Studium begleitet haben.

11. Erklärung des Eigenanteils

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

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn PD Dr. Pischke und Herrn Dr. Horvatits.

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

Die statistische Auswertung wurde durch Herrn PD Dr. Pischke und mich durchgeführt.

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

Entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen

13. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: