

Aus dem
CharitéCentrum 8 für Chirurgische Medizin,
Chirurgische Klinik
Campus Charité Mitte | Campus Virchow-Klinikum
Direktor: Professor Dr. med. Johann Pratschke

Habilitationsschrift

**Der differenzierte Einfluss der Seneszenz auf die Organtransplantation und
Lebenteilresektion**

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Chirurgie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Felix Krenzien

Eingereicht:	09/2018
Dekan:	Prof. Dr. med. Axel R. Pries
1. Gutachter/in:	Prof. Dr. Thomas Becker, Kiel
2. Gutachter/in:	Prof. Dr. Guido Beldi, Bern

Inhaltsverzeichnis:

Abkürzungen	3
1 Einleitung	4
1.1 Immunoseneszenz.....	4
1.1.1 Die Seneszenz des adaptiven Immunsystems.....	5
1.1.2 Die Seneszenz des angeborenen Immunsystems	5
1.2 Lebertransplantation.....	6
1.2.1 Akute Organabstoßung im Alter	6
1.2.2 Neoplasien und Infektionen im Alter.....	7
1.2.3 Altersadaptierte Immunsuppression	8
1.3 Leberteilresektion	9
1.3.1 Therapie des hepatozellulären Karzinoms.....	10
1.4 Zielsetzung	11
2 Eigene Arbeiten	12
2.1 Klinische Untersuchungen.....	12
2.1.1 Untersuchung des Langzeitüberlebens von Patienten mit einem hepatozellulären Karzinom in Leberzirrhose nach Lebertransplantation und Leberteilresektion	12
2.1.2 Altersspezifische Analyse von Angststörung, Depression, Fatigue und Lebenszufriedenheit nach Lebertransplantation.....	22
2.1.3 Validierung der Iwate-Kriterien für die präoperative Risikostratifizierung einer Leberteilresektion bei hepatozellulärem Karzinom	30
2.2 Experimentelle Untersuchungen	40
2.2.1 Altersabhängige metabolische und immunsuppressive Effekte von Tacrolimus (FK506) anhand eines murinen Transplantationsmodelles.....	40
2.2.2 Untersuchung seneszenter CD8+ T-Zellen und deren Einflusses auf das Transplantatüberleben in einem murinen Transplantationsmodell	54
2.2.3 Untersuchung der Rolle CD11c+ dendritischer Zellen älterer Organspender in der akuten Abstoßungsreaktion.....	66
3 Diskussion.....	77
4 Zusammenfassung.....	83
5 Literaturverzeichnis	85
6 Danksagung	91
7 Erklärung.....	92

Abkürzungen

CNI	Calcineurininhibitor
CTLA-4	<i>englisch für cytotoxic T-lymphocyte-associated Protein 4</i>
DFS	<i>englisch für disease-free survival</i>
DSS	<i>englisch für Difficulty Scoring System</i>
FLZ	Fragebogen zur Lebenszufriedenheit
HADS	<i>englisch für Hospital Anxiety and Depression Scale</i>
HCC	hepatozelluläres Karzinom
LiMAX	<i>englisch für maximum liver function capacity</i>
MELD	<i>englisch für Model for end-stage liver disease</i>
MFI-20	<i>englisch für Multidimensional Fatigue Inventory</i>
mTOR	<i>englisch für mechanistic Target of Rapamycin</i>
PHFL	<i>englisch für post-hepatectomy liver failure</i>
ROS	<i>englisch für reactive oxygen species</i>
TAC	Tacrolimus
TPG	Transplantationsgesetz

1 Einleitung

Die leberchirurgischen Eingriffe haben insbesondere in der Tumorthherapie in den letzten Jahren deutliche Fortschritte gemacht und sind wesentlicher Bestandteil kurativer multimodaler Therapiekonzepte. So sind die Lebertransplantation oder Lebeteilresektion die einzigen kurativen Behandlungsoptionen des hepatozellulären Karzinoms (HCC), welches weltweit insgesamt die sechsthäufigste Tumorerkrankung darstellt.¹ Der demographische Wandel geht einher mit einer erhöhten Lebenserwartung und führt zu einer signifikanten Veränderung der Altersstruktur der chirurgischen Patienten. Das mediane Alter bei Diagnosestellung eines HCC liegt weltweit bei > 60 Jahren, während starke regionale Schwankungen vorzufinden sind.² In Europa liegt der Median bei Diagnosestellung bei > 70 Jahren. In der Transplantationschirurgie sind ähnliche Tendenzen erkennbar. So kam es in den letzten 20 Jahren im Eurotransplant-Raum*¹ zu einer Verdopplung der Patienten > 55 Jahre auf der Warteliste für eine Lebertransplantation.^{3,4} Gleichzeitig war eine Verdopplung des medianen Alters der Organspender auf > 55 Jahre zu verzeichnen. Dieser Umstand führt zu einer Zunahme sogenannter marginaler Spenderorgane, die eine schlechtere Organqualität aufweisen können. Zum anderen kommt es zu einer Zunahme älterer Patienten auf der Warteliste, denen diese Organe angeboten werden. Interessanterweise führt der physiologische Alterungsprozess zu spezifischen funktionellen und phänotypischen Veränderungen der Immunkompartimente.⁵ Diese Prozesse werden als Immunoseneszenz bezeichnet, die u.a. die Fähigkeit auf ein Alloantigen zu reagieren beschreiben. Für die Karzinogenese, die Organtransplantation und andere Erkrankungen sind diese Zusammenhänge von übergeordneter Bedeutung. Konkret bedeutet das, dass beispielsweise die Inzidenz von Tumorerkrankungen, Diabetes mellitus oder sogenannter nosokomialer Infektionen im Alter zunehmen.⁶⁻⁸ Das Risiko einer Organabstoßung nach Transplantation nimmt im höheren Lebensalter ab, wenngleich das Abstoßungsrisiko bei einem höheren Spenderalter zunimmt.⁹

In der Tat werden ältere Patienten in klinischen Studien oft nicht berücksichtigt und ein hohes Patientenalter kann zum Studienausschluss führen (> 65 Jahre).^{10,11} Daher ist das Ziel der vorliegenden Arbeit, den alternden Patienten differenziert zu charakterisieren, um bestehende chirurgische Therapien des HCC zu verbessern. Die Lebertransplantation wird mit der Lebeteilresektion für die Therapie des HCC in Bezug auf Langzeitüberleben und tumorfreies Überleben verglichen. Zudem erfolgt die Überprüfung der Lebensqualität nach Lebertransplantation für Patienten > 65 Jahre und die Risikostratifizierung laparoskopischer Lebeteilresektionen zur Therapie des HCC. Im experimentellen Abschnitt der Arbeit werden die Zusammenhänge der Immunoseneszenz mechanistisch anhand verschiedener Kleintiermodelle der Organtransplantation untersucht. Die immunsuppressive Therapie zur Prophylaxe der Organabstoßung soll verbessert werden, mit dem Ziel eine optimale Transplantatfunktion gewährleisten zu können.

1.1 Immunoseneszenz

Die Immunoseneszenz ist charakterisiert durch eine veränderte Funktion des angeborenen und des adaptiven Immunsystems mit zunehmendem Alter. Beispielsweise ist im Alter die Fähigkeit auf Antigene zu reagieren kompromittiert. Wird ein Patient im hohen Alter geimpft, nimmt die Antikörper-Produktion im Vergleich zu jungen Patienten ab.¹² Das bedeutet, dass es zu einem

*Organallokation in den Benelux-Ländern, Deutschland, Österreich, Slowenien, Kroatien und Ungarn

Nachlassen der Immunkompetenz im Alter kommt, die einhergeht mit einer erhöhten Suszeptibilität für bakterielle Infektionen und einem erhöhtem Risiko für Neoplasien.^{6,8}

1.1.1 Die Seneszenz des adaptiven Immunsystems

Ein entscheidender Faktor für die Seneszenz des adaptiven Immunsystems ist die Involution oder Atrophie des Thymus. In diesem Organ findet die sogenannte Thymopoese, also die Reifung von T-Zellen, statt. Durch die stattfindende Atrophie im Alter nimmt die Funktion des Thymus zunehmend ab.¹³ Die Anzahl der naiven T-Zellen ist im Alter reduziert und es kommt zu einer Zunahme der Gedächtnis- und Effektorzellen. Zudem führt die veränderte Zytokinproduktion zu einer Veränderung der Differenzierung und Migration der T-Zellen vice versa. Die reduzierte Sekretion von Interleukin-2 bedingt eine reduzierte Proliferation. Dahingegen sind im Alter erhöhte Werte für Interferon- γ , Interleukin-6, Interleukin-1 und Tumornekrosefaktor im humanen Blutplasma festzustellen. Dies führt zu einer latenten Stimulation des Immunsystems und Veränderung der Zelldifferenzierung.^{14,15} Die spezifische T-Zellseneszenz geht mit einer Dysregulation inklusive Verkürzung der Telomere und einem reduzierten Repertoire des T-Zell-Rezeptors einher.^{16,17} Die Aktivierung von T-Zellen erfolgt über die Bindung des sogenannten T-Zell Rezeptors CD3 an Peptide des Antigen der Haupthistokompatibilitätskomplexe antigen-präsentierender Zellen. Zur kompletten Aktivierung der T-Zelle erfolgt die Ko-Stimulation des CD28 Rezeptors durch das Membranprotein B7. Im Alter ist eine reduzierte Expression von CD28 festzustellen, was wiederum zu einer verminderten Aktivierung der T-Zellen führt.¹⁸ Bei der gesteigerten Aktivierung von T-Zellen durch CD3 kommt es zu einer gesteigerten Expression von CTLA-4 (*englisch für cytotoxic T-lymphocyte-associated Protein 4*) an der Zelloberfläche. Die Aktivierung von CTLA-4 wirkt dabei antagonistisch zu CD28 und somit hemmend auf die T-Zelle. Hierdurch wird im Allgemeinen eine überschießende Reaktion der Immunantwort verhindert. Mit zunehmenden Alter ist nun vor allem auf der Oberfläche von T-Zellen eine Hochregulation von CTLA-4 und somit eine zusätzliche Hemmung von CD28 zu beobachten.¹⁹

Die humorale Immunantwort ist im Alter verändert. Periphere B-Zellen weisen ein verlängertes Überleben auf.²⁰ Zudem kommt es zu einer verminderten Generierung von B-Zellen aufgrund der Abnahme von Vorläuferzellen, der reduzierten Interleukin-17 Produktion, und der eingeschränkten V(D)J-Rekombination, die die Variabilität der von B-Zellen gebildeten Antikörper bestimmt.^{21,22} Defekte hämatopoetische Stammzellen verändern im Alter die Genese der B-Zellen einschließlich deren epigenetischer Modifikation. Daraus resultiert die Unfähigkeit, das naive B-Zell-Repertoire ausreichend bilden zu können. Im klinischen Kontext sind die Implikationen des seneszenten adaptiven Immunsystems im Alter wesentlich und begründen das Konzept einer altersadaptiven Immunsuppression zur Prophylaxe der akuten Organabstoßung.

1.1.2 Die Seneszenz des angeborenen Immunsystems

Die Zellen des angeborenen Immunsystems sind im hohen Alter gut erhalten und weisen molekularbiologische sowie funktionelle Veränderungen auf. Die antigenpräsentierenden Zellen exprimieren weniger Haupthistokompatibilitätskomplexe Typ II.²³ Das führt zu einer Abnahme der CD4 vermittelten Immunantwort einschließlich einer Abnahme der Antikörperproduktion sowie der Stimulation von Makrophagen, Granulozyten und dendritischen Zellen. Die Anzahl der CD56- CD16+ natürlichen Killerzellen nehmen im Alter zu, wohin gegen die Anzahl der CD56+ Zellen abnimmt.²⁴ Dabei kommt es zu einer Veränderung des Phänotyps mit Reduktion der Proliferationskapazität und CD16-abhängigen Zytotoxizität.

Die Anzahl der Monozyten und der Makrophagen im Blut unterscheiden sich nicht zwischen jungen und alten Patienten, jedoch bestehen funktionelle Unterschiede.²⁵ Im Alter kommt es zu einer veränderten Aktivierung des Toll-like-Rezeptors mit geringerer Sekretion von TNF- α und IL-6. Darüber hinaus ist die Phagozytose von Makrophagen reduziert, die eine schlechtere Wundheilung und Organregeneration bedingt. Neutrophile Granulozyten zeigen im Alter eine zunehmende Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (*englisch für reactive oxygen species, ROS*), eine erhöhte Migration, Veränderungen der Oberflächenmerkmale und Erhöhung der Anzahl neutrophiler extrazellulärer Fallen.²⁶ Zusammenfassend bedingen diese Veränderungen ein proinflammatorisches Milieu, das zu einer erhöhten Infektanfälligkeit und chronischen Entzündungen führen kann.

1.2 Lebertransplantation

Die Leber ist zentrales Stoffwechselorgan des Menschen und aktuell durch kein artifizielles Organersatzverfahren ersetzbar.²⁷ Eine ausreichende Leberfunktion ist für den Menschen unabdingbar und so kommt es im Falle eines akuten Leberversagens trotz intensivmedizinischer Therapien innerhalb weniger Stunden zum Tode. Die Lebertransplantation nimmt hier als Therapie eine besondere Stellung ein, da sie sowohl für das akut auf chronische als auch das akute Leberversagen eingesetzt werden kann. Neben systemischen Lebererkrankungen, wie der Leberzirrhose oder der nichtalkoholischen Steatohepatitis, kann die Lebertransplantation u.a. für die Behandlung des HCC, bei Gallengangsatresien oder Stoffwechselerkrankungen wie beispielsweise α 1-Antitrypsinmangel, Morbus Wilson oder Hämochromatose eingesetzt werden.²⁸

Im Eurotransplant-Raum erfolgt die Organspende hauptsächlich durch hirntote Spender. Alternativ kann die Organspende durch eine sogenannte Leberlebendspende erfolgen. Die Organentnahme erfolgt hierbei durch eine Leberteilresektion bei einem gesunden Patienten. Die klinischen Ergebnisse nach der Lebertransplantation sind überzeugend. Die 20-Jahres Überlebensrate nach Transplantation liegt bei circa 50%.²⁹ Anzumerken ist, dass, im Gegensatz zu anderen Ländern, entsprechend dem Transplantationsgesetz die Organspende nach Herzstillstand in Deutschland nicht zugelassen ist.³⁰

Der demografische Wandel hat zu einer drastischen Veränderung der Altersstruktur der Organspender geführt, die mit einer größeren Varianz der Organqualität einhergeht.³¹ Hingegen erschwert die Zunahme des medianen Alters der Organempfänger mit Zunahme der Komorbiditäten eine Lebertransplantation.^{32,33} Beispielsweise nehmen kardiovaskuläre Erkrankungen im Alter zu und können aufgrund eines zu hohen Operationsrisikos zum Ausschluss einer Lebertransplantation führen.

1.2.1 Akute Organabstoßung im Alter

Die akute Organabstoßung nach Lebertransplantation tritt in Abhängigkeit des immunsuppressiven Regimes mit einer Häufigkeit von bis zu 46% auf.^{34,35} Die Immunreaktion gegen Antigene des Transplantats mindert die Transplantatfunktion. Dies kann zum Transplantatversagen führen, wodurch sich die Notwendigkeit einer Re-Transplantation ergibt.³⁴ Der aktuelle Goldstandard zur Diagnosesicherung einer akuten Transplantatabstoßung ist die Leberpunktion mit histopathologischer Untersuchung des Lebergewebes. Die Beurteilung der Abstoßungsreaktion erfolgt anhand der Banff-Kriterien in verschiedene Schweregrade.³⁶

Akute Abstoßungen treten bei alten Organempfängern seltener auf.⁹ Interessanterweise kommt es bei alten Organspendern zu einer Zunahme der Immunogenität des Transplantats und somit zu einer Zunahme der Häufigkeit der akuten Abstoßung. Wird also ein altes Organ einem jungen Organempfänger transplantiert, ist das Risiko der akuten Abstoßung erhöht verglichen mit der Transplantation eines jungen Organs.⁹ Dieser Effekt scheint jedoch mit zunehmendem Empfängeralter abzunehmen (siehe **Abbildung 1**). Die Rationale einer altersadaptierten immunsuppressiven Therapie soll diese Effekte abbilden und neben dem Alter des Organempfängers auch das Alter des Organspenders berücksichtigen.³⁷

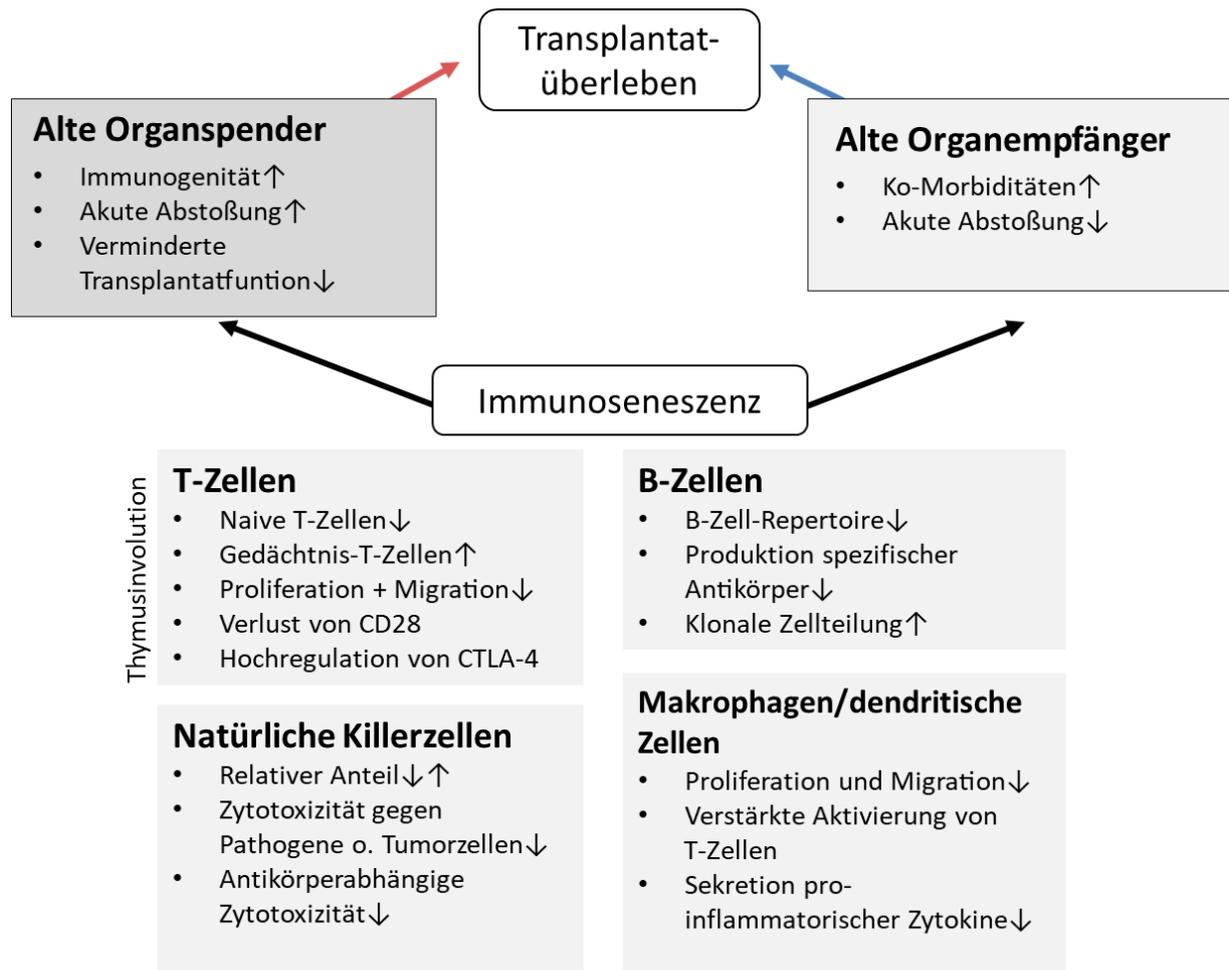


Abbildung 1: Darstellung des Einflusses der Immunoseneszenz für die Transplantationsmedizin. Die im Alter auftretenden Veränderungen innerhalb der verschiedenen Immunokompartimente beeinflussen das Transplantatüberleben, wobei ein hohes Alter der Organempfänger oder der Organspender zu jeweiligen spezifischen Veränderungen führen. Abbildung nach Krenzien et al.³⁷

1.2.2 Neoplasien und Infektionen im Alter

Die Inzidenz der Tumorerkrankungen nehmen im Alter von > 50 Jahre deutlich zu und sind bei transplantierten Patienten im Vergleich zur Normalbevölkerung doppelt bis dreifach erhöht.³⁸ Die häufigsten Neoplasien sind neben lymphoproliferativen Erkrankungen Tumore der Haut. De-novo-Neoplasmen sind für 10% der Todesfälle zehn Jahre nach der Lebertransplantation

verantwortlich und stellen die häufigste Todesursache für Patienten dar, die mindestens ein Jahr nach der Transplantation überlebt haben.³⁹

Infektionen bei transplantierten Patienten werden hauptsächlich durch Bakterien hervorgerufen, gefolgt von Virus- und Pilzinfektionen.⁴⁰ Die Inzidenz bakterieller Infektionen steigt mit zunehmendem Alter leicht an, während virale Infektionen im Alter seltener auftreten.^{41,42} Gramnegative Bakterien sind die Hauptursache von Bakteriämien und Sepsen. Prädestinierende Faktoren, welche mit einem erhöhten Bakteriämierisiko einhergehen, sind beispielsweise das Spender- sowie Empfängeralter, eine Intensiv- und Antibiotikatherapie, sowie ein vorhandener Diabetes mellitus.⁴³ So verdoppelt sich bei einem transplantierten Patienten das Risiko für Harnwegsinfektionen pro Lebensjahrzent.⁴⁴ Das Risiko einer Sepsis auf Grundlage einer bakteriellen Infektion mit letalem Ausgang nimmt im zunehmenden Alter dramatisch zu.⁴⁵ Basierend auf der Analyse von mehr als 25.000 nierentransplantierten Patienten betrug die Inzidenz viraler Infektion in der Altersgruppe <18 Jahre 13%, während Patienten in der Altersgruppe >51 Jahre eine Inzidenz von 5% aufwiesen.⁴¹ Infektionen des Zytomegalievirus nahmen in dieser Kohorte mit zunehmendem Alter um das Dreifache ab. Dies kann man möglicherweise mit der bereits erfolgten Sensibilisierung erklären. In der Tat liegen IgG Antikörper gegen das Epstein-Barr- und Zytomegalie-Virus bei Organspendern wie Organempfängern im höheren Alter häufiger vor.⁴⁶

Pilzinfektionen stellen für transplantierte Patienten ein besonderes Problem dar. Für immunkompetente Patienten sind diese größtenteils opportunistischen Krankheitserreger meist nicht von Bedeutung. Die invasive Mykose ist mit einer deutlich erhöhten Sterblichkeit nach Organtransplantation assoziiert.⁴⁷ Auch hier ist eine altersabhängige Inzidenz wahrscheinlich, wenngleich die Datenlage keine ausreichende Evidenz bietet. In einer multizentrischen Studie des *Transplant-Associated Infection Surveillance Network* betrug das Durchschnittsalter 52 Jahre, wenngleich eine hohe Varianz festzustellen war (Intervall 12-68 Jahre).⁴⁸

1.2.3 Altersadaptierte Immunsuppression

Das Konzept der altersadaptierten Immunsuppression begründet sich auf die Immunoseneszenz, sowie auf eine Organfunktionen mit veränderter/m Absorption, Verteilung, Metabolismus und Ausscheidung der Immunsuppressiva (**Tabelle 1**).

Obwohl ältere Patienten die am stärksten wachsende Patientengruppe darstellen, werden diese oft in klinischen Studien nicht berücksichtigt.^{10,11} Interessanterweise benötigen ältere Organempfänger nur circa die Hälfte der auf das Körpergewicht angepassten Dosis von Calcineurininhibitoren um die gleichen Konzentrationen im Blut zu erreichen wie jüngere Organempfänger.⁴⁹ Dies lässt vermuten, dass der Metabolismus der Calcineurininhibitoren im Alter verändert ist. Ältere Menschen haben eine verminderte Fähigkeit, bestimmte Substrate zu metabolisieren, die unter anderem Enzyme der Phase I benötigen, wie beispielsweise Zytochrom P450.⁵⁰ Diese Veränderungen werden durch ein geringeres Lebervolumen, schlechtere Leberdurchblutung, oder Veränderungen der Arzneimittelproteinbindung begünstigt.⁵¹

Tabelle 1: Der Einfluss altersabhängiger Veränderungen auf die Pharmakokinetik der Immunsuppressiva. Tabelle nach Krenzien et al. und Gabardi et al.^{37,52}

Pharmakokinetik	Veränderungen im Alter	Einfluss auf die Immunsuppression
Absorption	<ul style="list-style-type: none"> ↓ Magendarmmotilität ↓ Magenentleerung ↑ PH-Wert im Magen ↑ Enterale CYP450 Aktivität ↓ P-gp Expression und Aktivität ↓ Perfusion Splanchnikusgebiet ↓ Intestinale Resorptionsfläche 	<ul style="list-style-type: none"> • Veränderung der Absorption, die gesteigert oder abgeschwächt ist, in Abhängigkeit der Immunsuppressiva • Verminderte Maximalkonzentration • Konstante reduzierte Resorption
Verteilung	<ul style="list-style-type: none"> ↓ Albumin ↓ P-gp Expression und Aktivität ↑ Relatives Körperfett ↓ Wasserhaushalt des Körpers ↓ Magermasse ↑ Saures Alpha-1-Glykoprotein 	<ul style="list-style-type: none"> • Lipophile Medikamente haben höhere Verteilungsvolumina, längere Halbwertszeiten und so höhere Serumkonzentrationen (CNI, mTOR-Hemmer) • Hydrophile Medikamente haben niedrigere Verteilungsvolumina und so höhere Serumkonzentrationen
Metabolismus	<ul style="list-style-type: none"> ↓ Albumin ↑ Saures Alpha-1-Glykoprotein ↓ Perfusion Leber ↓ Metabolismus Leber (z.B. CYP450, Oxidation, Hydrolyse) ↓ Lebergewicht 	<ul style="list-style-type: none"> • Veränderung des ungebundenen Anteils der Medikamente, wodurch die Wirkung und Ausscheidung verändert wird • Reduktion des <i>First-Pass-Effekts</i> und der hepatischen Clearance
Ausscheidung	<ul style="list-style-type: none"> ↓ Biliäre Sekretion ↓ Renale Ausscheidung ↓ Transportprozesse 	<ul style="list-style-type: none"> • Abnahme der leberspezifischen und nierenspezifischen Clearance

Die Veränderungen der Immunoseneszenz sind bisher im Kontext der Immunsuppression nicht ausreichend untersucht worden. Die Schwierigkeit bei der Anpassung der immunsuppressiven Therapie nach Organtransplantation besteht darin, eine Balance aus einer ausreichenden immunsuppressiven Wirkung und einer Reduktion der Toxizität zu erreichen, um einerseits die Organabstoßungen zu vermeiden und andererseits die bekannten Nebeneffekte einer Überimmunsuppression zu vermeiden.⁵³ Neben dem Auftreten von Infektionen können ein de-novo Diabetes mellitus, Osteoporose oder Wundheilungsstörungen auftreten. Langfristige Nebenwirkungen sind die bereits aufgeführten de-novo Neoplasien.³⁹

1.3 Leberteilresektion

Die Leberteilresektion – also die chirurgische Entfernung von Leberparenchym – ist ein wesentlicher Bestandteil der Therapie von primären und sekundären Lebertumoren. Die Leberteilresektion findet zudem Anwendung bei der Behandlung symptomatischer Leberzysten, bei Gallengangstrikturen mit chronischen Infektionen, sowie im Rahmen der Leberlebendspende zur Lebertransplantation. Die Leberteilresektion wird in anatomische und atypische Resektionen eingeteilt. Die anatomischen Resektionen verlaufen entlang der Segmentgrenzen, wobei bis zu

6 der insgesamt 8 Lebersegmente entfernt werden können. Dabei ist eine ausreichende Leberfunktion notwendig, die bereits anhand verschiedener Parameter präoperativ abgeschätzt werden kann. Laparoskopische Techniken haben in den letzten Jahren die Leberchirurgie novelliert. Die erste laparoskopische Cholezystektomie wurde in den späten 1980er Jahren durchgeführt.⁵⁴ Seither ist die laparoskopische Leberteilektomie für kleinere Leberresektionen, sogenannte minor Resektionen, in vielen Zentren der technische Standard, während die erweiterten Hemihepatektomien mit biliärer Rekonstruktion weiterhin vornehmlich offen chirurgisch durchgeführt werden.⁵⁵

1.3.1 Therapie des hepatozellulären Karzinoms

Das HCC ist der häufigste primäre Lebertumor mit zunehmender Inzidenz und die zweithäufigste Tumor-assoziierte Todesursache weltweit.¹ Ätiopathogenetisch sind vor allem eine chronische Leberschädigung durch Hepatitis B, Hepatitis C, Alkoholabusus oder aber Übergewicht im Sinne einer nicht-alkoholischen Steatohepatitis relevant. Die bereits erwähnten demographischen Veränderungen führen zu einer Zunahme des Anteils älterer Patienten mit einem HCC.² Inzwischen liegt das Alter bei Diagnosestellung eines HCC in Europa bei über 70 Jahren.

Die Lebertransplantation ist die Therapie der Wahl für ausgewählte Patienten mit HCC in einer Leberzirrhose. Revolutioniert wurde die Indikationstellung für das HCC durch die sogenannten Mailand-Kriterien, die u.a. im Eurotransplant-Raum Anwendung finden.⁵⁶ Patienten mit einem Tumorherd < 5cm oder 3 Tumorherden < 3cm (jeweils) ohne Zeichen einer extrahepatischen Tumormanifestation oder von Gefäßeinbrüchen haben statistisch gesehen eine verbesserte Überlebensrate. Im Rahmen der *Standard exceptions* des *Model for end-stage liver disease* (MELD) erhalten diese Patienten Extrapunkte zu dem errechneten Labor-MELD und werden so priorisiert. Dennoch ist nicht jeder Patient für eine Lebertransplantation geeignet, da kardiovaskuläre Komorbiditäten, maligne Vorerkrankungen, Makrogefäßinvasion, Lymphknoten- oder Fernmetastasen sowie ein florider Alkoholabusus Kontraindikationen darstellen.^{30,32,33} Ein hohes Lebensalter ist in Deutschland per se kein Ausschlußkriterium entsprechend der Richtlinien zur Organtransplantation gem. § 16 Transplantationsgesetz (TPG),³⁰ jedoch werden Patienten > 70 Jahre aufgrund des hohen operativen Risikos, welche mit schlechteren klinischen Ergebnissen einhergehen, typischerweise nicht für eine Lebertransplantation gelistet.

Verbesserungen der Bestimmung der präoperativen Leberfunktion, der chirurgischen Techniken und des perioperativen Patientenmanagements ermöglichen inzwischen Leberteilektomien bei Patienten mit einer chronischen Leberschädigung.⁵⁷ In der Chirurgischen Klinik des Virchow-Klinikums der Charité–Universitätsmedizin Berlin kam es in den letzten Jahren zu verschiedenen technischen Innovationen auf diesem Gebiet. Die Volumetrie der Leber durch Schnittbilder der Computertomographie oder Magnetresonanztomographie ermöglicht bereits präoperativ, das postoperative Lebervolumen abzuschätzen.⁵⁸ Zur Abschätzung der funktionellen Kapazität der Leber wird präoperativ die quantitative Aktivität von Zytochrom P450 1A2 bestimmt*,² die eine Abschätzung der postoperativen Leberfunktion und Leberregenerationsfähigkeit ermöglicht.⁵⁹

Die Leberteilektomie und die Lebertransplantation sind die einzigen potentiell kurativen Therapieoptionen für das HCC und weisen in Abhängigkeit der Patientencharakteristika

* Leberfunktionstest (*LiMAx*, *maximum liver function capacity*), der die Verstoffwechslung von ¹³C-Methacetin durch das Zytochrom P450-1A2 erfasst

verschiedene Vor- und Nachteile auf. Die Leberteilresektion muss neben der kompletten Entfernung des Tumors auch die zukünftige Leberfunktion berücksichtigen, da bei zu geringer postoperativer funktioneller Kapazität ein Leberversagen (*englisch für post-hepatectomy liver failure, PHLF*) entstehen kann.⁶⁰ Die Leberregeneration ist bei chronischer Schädigung der Leber limitiert. Multimodale Therapiekonzepte wie die Radiofrequenzablation, transarterielle Chemoembolisation, oder das sogenannte *Afterloading* können im Sinne eines *Bridging-to-transplant* Konzepts, also einer (Zeit-)Überbrückung bis zur Transplantation, bei Tumorrezidiven und komplementär zur Leberteilresektion eingesetzt werden.⁶¹

1.4 Zielsetzung

Im Folgenden werden klinische sowie experimentelle Untersuchungen präsentiert, welche die Zusammenhänge der immer älter werdenden Patienten differenziert darstellen, mit dem übergeordneten Ziel, bestehende chirurgische Therapien des HCC zu verbessern:

1. *Untersuchung des Langzeitüberlebens von Patienten mit einem hepatozellulären Karzinom in Leberzirrhose nach Lebertransplantation und Leberteilresektion*
2. *Alterspezifische Analyse von Angststörung, Depression, Fatigue und Lebenszufriedenheit nach Lebertransplantation*
3. *Validierung der Iwate-Kriterien für die präoperative Risikostratifizierung einer Leberteilresektion bei hepatozellulärem Karzinom*
4. *Altersabhängige metabolische und immunsuppressive Effekte von Tacrolimus (FK506) anhand eines murinen Transplantationsmodelles*
5. *Untersuchung seneszenten CD8+ T-Zellen und deren Einflusses auf das Transplantatüberleben anhand eines murinen Transplantationsmodelles*
6. *Untersuchung der Rolle CD11c+ dendritischer Zellen älterer Organspender für die akute Abstoßungsreaktion*

2 Eigene Arbeiten

2.1 Klinische Untersuchungen

2.1.1 Untersuchung des Langzeitüberlebens von Patienten mit einem hepatozellulären Karzinom in Leberzirrhose nach Lebertransplantation und Leberteilresektion

Krenzien F, Schmelzle M, Struecker B, Raschzok N, Benzing C, Jara M, Bahra M, Öllinger R, Sauer IM, Pascher A, Pratschke J, Andreou A. Liver Transplantation and Liver Resection for Cirrhotic Patients with Hepatocellular Carcinoma: Comparison of Long-Term Survivals. *J Gastrointest Surg.* 2018;22:840–848. <https://doi.org/10.1007/s11605-018-3690-4>

Die Leberteilresektion und Lebertransplantation sind die einzigen kurativen Therapieoptionen des HCC, wenngleich beide Verfahren unterschiedliche Vor- und Nachteile aufweisen. Das Ziel der klinischen Studie war es, die Lebertransplantation mit der Leberteilresektion zu vergleichen. Die Auswertung der Patientendaten erfolgte unter Berücksichtigung der Mailand-Kriterien, des Gesamtüberlebens und dem krankheitsfreien Überleben.

Im Zeitraum von 1989–2011 wurden insgesamt wurden 364 Patienten lebertransplantiert, von denen 214 Patienten die Mailand-Kriterien erfüllten. Im gleichen Zeitraum wurden 141 Patienten leberreseziert, von denen 59 die Mailand-Kriterien erfüllten. Die postoperative Morbidität für Patienten, die die Mailand-Kriterien erfüllten, war nach Leberresektion im Vergleich zur Lebertransplantation niedriger (11% vs. 37%, $P < 0,0001$). Patienten mit einem HCC innerhalb der Mailand-Kriterien, die zwischen 1989–2004 lebertransplantiert wurden, hatten ein signifikant besseres Überleben als ebensolche Patienten, welche im selben Zeitraum leberreseziert wurden (5-Jahres Überlebensrate: 77% vs. 36%, $P < 0,0001$). Für die Zeitspanne zwischen 2005–2011 war eine Verbesserung der Ergebnisse nach Leberresektion zu verzeichnen, mit vergleichbaren Ergebnissen zur Lebertransplantation (5-Jahres Überlebensraten: 73% vs. 61%, $P = 0,07$). Für das krankheitsfreie Überleben bestand für die Lebertransplantation in beiden Zeitepisoden ein signifikanter Vorteil (1989–2004, 5-Jahres krankheitsfreies: 76% vs. 29%, $P < 0,0001$; 2005–2011, 5-Jahres krankheitsfreies: 70% vs. 40%, $P < 0,0001$).

Zusammenfassend konnte eine Verbesserung der Überlebensrate nach Leberresektion für Patienten innerhalb der Mailand-Kriterien festgestellt werden. Für die Lebertransplantation war keine Verbesserung der klinischen Ergebnisse in den letzten Jahren zu verzeichnen. Aufgrund des Organmangels in Deutschland gewinnt die Leberteilresektion an Bedeutung, die keinen Organspender erfordert und immer bessere onkologische Ergebnisse aufzeigt. (Auszug aus dem Originalabstrakt, zusammengefasst durch den Autor)⁶²

2.1.2 Alterspezifische Analyse von Angststörung, Depression, Fatigue und Lebenszufriedenheit nach Lebertransplantation

Krenzien F, Krezdorn N, Morgül MH, Wiltberger G, Atanasov G, Hau HM, Hinz A, Schmelzle M, Bartels M, Benzing C. The elderly liver transplant recipients: anxiety, depression, fatigue and life satisfaction. *Z Gastroenterol.* 2017;55:557–563. <https://doi.org/10.1055/s-0043-102580>

Ältere Patienten werden für eine Lebertransplantation oft nicht berücksichtigt. Die Zunahme von Komorbiditäten im Alter geht einher mit einem erhöhten operativen Risiko, wenngleich das Alter per se keine Kontraindikation darstellt. Das Ziel der Studie war es, Angststörung, Depression, Fatigue und Lebenszufriedenheit älterer Patienten nach Lebertransplantation zu erfassen und entsprechend ihres Alters zu analysieren.

Dafür wurden Fragebögen an Patienten verschickt, die entsprechend ihres Alters eingeteilt wurden: Patienten ≤ 60 Jahre; Patienten 60–69 Jahre und Patienten ≥ 70 Jahre. Für die Studie wurden nur Patienten eingeschlossen, die lebertransplantiert worden waren. Die psychische Verfassung, Lebenszufriedenheit, Fatigue wurden mit der *Hospital Anxiety and Depression Scale* (HADS), dem Fragebogen zur Lebenszufriedenheit (FLZ) und dem *Multidimensional Fatigue Inventory* (MFI-20) erfasst.

Insgesamt wurden 276 Fragebögen von Patienten nach Lebertransplantation beantwortet und ausgewertet (40,1%), ausgehend von 689 angeschriebenen Patienten. Die Prävalenz von Angststörungen und Depressionen war nach Lebertransplantation zwischen den Altersgruppen nicht unterschiedlich verteilt. Hingegen hatten Patienten ≥ 70 Jahre eine signifikant bessere Lebenszufriedenheit in Bezug auf Einkommen und Arbeit im Vergleich zu Patienten < 60 Jahre. Die chronische Erschöpfung, die sogenannte Fatigue, war am stärksten ausgeprägt bei Patienten < 60 Jahren (52,7%, SD=15,8) und ≥ 70 Jahre (52,7%, SD=17,7). Patienten mit einem höheren Bildungsniveau (Abitur) hatten eine geringere chronische Erschöpfung für das Segment Motivation ($P = 0,023$) und mentale Erschöpfung ($P = 0,013$) im Vergleich zu Patienten mit einem niedrigeren Bildungsniveau.

Zusammenfassend ergibt sich somit für ein höheres Lebensalter kein Hinweis für eine geminderte Lebensqualität nach Lebertransplantation. In Bezug auf Lebensqualität sollte somit ein Patientenalter von > 70 Jahren keine Kontraindikation für eine Lebertransplantation darstellen. (Auszug aus dem Originalabstrakt, zusammengefasst durch den Autor)⁶³

2.1.3 Validierung der Iwate-Kriterien für die präoperative Risikostratifizierung einer Leberteileresektion bei hepatozellulärem Karzinom

Krenzien F, Wabitsch S, Haber P, Kamali C, Brunnbauer P, Benzing C, Atanasov G, Wakabayashi G, Öllinger R, Pratschke J, Schmelzle M. Validity of the Iwate criteria for patients with hepatocellular carcinoma undergoing minimally invasive liver resection. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2018;25:403–411. <https://doi.org/10.1002/jhbp.576>

Die Iwate-Kriterien wurden entsprechend der internationalen Konsensuskonferenz für laparoskopische Leberchirurgie veröffentlicht, mit dem Ziel, den Schwierigkeitsgrad einer Leberteileresektion bereits *a priori* zu erfassen. Die Graduierung von laparoskopischen Eingriffen hat eine hohe klinische Relevanz, da der Schwierigkeitsgrad stark variieren kann und so bei der Indikationsstellung berücksichtigt werden muss. Das Ziel der Studie war es, die Iwate-Kriterien zu validieren, die bisher nicht auf ihre Anwendbarkeit überprüft worden sind.

Die Kriterien umfassen 6 präoperative Parameter, die eine Einteilung des Schwierigkeitsgrades in leichte, mittlere, schwere Eingriffe sowie Experteneingriffe erlauben. Die Validierung der Iwate-Kriterien ist anhand von Patienten erfolgt, die eine laparoskopische Leberteileresektion aufgrund eines HCC erhalten haben ($n = 77$).

Die Dauer der Operation ist mit zunehmendem Schwierigkeitsgrad der Operation angestiegen ($P < 0,001$), wobei die mediane Dauer der Operation für leichte Eingriffe bei 175 min (Bereich: 112–250 min) und für Experteneingriffe bei 324 min (Bereich: 123–435 min) lag. Die Schwierigkeitsgrade in der untersuchten Kohorte waren unterschiedlich verteilt. Die Häufigkeit für leichte Eingriffe betrug 9% ($n = 7$), für mittlere Eingriffe 38% ($n = 29$) und für schwere Eingriffe 36% ($n = 28$). Die Expertenstufe lag in 15% ($n = 12$) der Fälle vor. Ein hoher Schwierigkeitsgrad war assoziiert mit einer signifikant längeren Krankenhausverweildauer und einer erhöhten präoperativen Leberfunktion ($P < 0,05$). Die Rate der postoperativen Komplikationen (Clavien-Dindo $> II$) für leichte, mittlere, und schwere Eingriffe sowie Experteneingriffe betrug respektive 0% ($n = 0$), 10% ($n = 3$), 3,5% ($n = 1$) und 50% ($n = 6$, $P < 0,04$).

Zusammenfassend können die Iwate-Kriterien zur präoperativen Stratifizierung des Schweregrades einer Leberteileresektion für Patienten mit einem HCC eingesetzt werden. Die Iwate-Kriterien sind signifikant assoziiert mit Morbidität und der Dauer einer laparoskopischen Leberteileresektion. Darüber hinaus erlauben sie den Vergleich verschiedener Patientenkohorten und können bei der Erstellung eines chirurgischen Curriculums junger Chirurgen helfen, um eine an den chirurgischen Schwierigkeitsgrad angepasste Ausbildung zu ermöglichen. (Auszug aus dem Originalabstrakt, zusammengefasst durch den Autor)⁶⁴

2.2 Experimentelle Untersuchungen

2.2.1 Altersabhängige metabolische und immunsuppressive Effekte von Tacrolimus (FK506) anhand eines murinen Transplantationsmodelles

Krenzien F*, Quante M*, Heinbokel T*, Seyda M, Minami K, Uehara H, Biefer HRC, Schuitenmaker JM, Gabardi S, Splith K, Schmelzle M, Petrides AK, Azuma H, Pratschke J, Li XC, ElKhal A, Tullius SG. Age-Dependent Metabolic and Immunosuppressive Effects of Tacrolimus. *Am J Transplant.* 2017;17:1242–1254. <https://doi.org/10.1111/ajt.14087>

*Geteilte Erstautorenschaft

Der demographische Wandel führt zu einer veränderten Altersstruktur in der Transplantationsmedizin, einhergehend mit einer dramatischen Zunahme des medianen Empfängeralters zum Zeitpunkt der Transplantation. Die immunsuppressive Therapie wurde bisher in älteren Organempfängern nicht ausreichend untersucht, wenngleich immunologische Veränderungen, die sogenannte Immunoseneszenz, mit zunehmendem Alter festzustellen sind. In der vorliegenden Studie wurden altersspezifisch die Effekte des Calcineurin-Inhibitors Tacrolimus (TAC) in einem Mausmodell untersucht. Jungen (3 Monate) und alten Mäusen (18 Monate) wurde allogene Haut transplantiert. Postoperativ erfolgte die Therapie mit TAC zur Abstoßungsprophylaxe.

Ältere Mäuse zeigten eine Verlängerung des Transplantatüberlebens im Vergleich zu jungen Mäusen. Zudem war die Hälfte der Dosis notwendig, um in alten Mäusen einen vergleichbaren Talspiegel wie in jungen Mäusen zu erreichen. Die Gabe von TAC konnte bei alten CD4⁺ T-Zellen die Produktion des proinflammatorischem Interferon- γ reduzieren und die Produktion von Interleukin-10 erhöhen. Des Weiteren führte die Gabe von TAC zu einer effektiveren Inhibierung der Sekretion von Interleukin-2 bei alten CD4⁺ T-Zellen, dass zu einer signifikanten Inhibierung der Zellproliferation führte. Die Behandlung von murinen und humanen CD4⁺ T-Zellen mit TAC demonstrierte eine altersspezifische Suppression des intrazellulären Ca²⁺-Einstroms sowie eine effektivere Hemmung von Calcineurin. Darüber hinaus war die Wirkung von TAC altersspezifisch für CD4⁺ T-Zellen. In der Tat war das verlängerte Transplantatüberleben in alten Mäusen unverändert nachzuweisen, wenn diese mit TAC therapiert wurden und CD8⁺ T-Zellen depletiert wurden.

Zusammenfassend konnte diese Studie erstmalig eine altersspezifische immunsuppressive Wirkung von TAC auf CD4⁺ T-Zellen darstellen. Die Inhibierung von Calcineurin und des intrazellulären Ca²⁺ Einstroms in murinen und humanen T-Zellen begründet die stärker immunsuppressive Wirkung von TAC im Alter und unterstreicht die Bedeutung einer altersadaptierten Immunsuppression. (Auszug aus dem Originalabstrakt, zusammengefasst durch den Autor)⁶⁵

2.2.2 Untersuchung seneszenten CD8+ T-Zellen und deren Einflusses auf das Transplantatüberleben anhand eines murinen Transplantationsmodells

Bedi DS*, Krenzien F*, Quante M, Uehara H, Edtinger K, Liu G, Denecke C, Jurisch A, Kim I, Li H, Yuan X, Ge X, ElKhal A, Tullius SG. Defective CD8 Signaling Pathways Delay Rejection in Older Recipients. *Transplantation*. 2016;100:69–79.
<https://doi.org/10.1097/TP.0000000000000886>

*Geteilte Erstautorenschaft

Die Immunoseneszenz, die Alterung des Immunsystems, umfasst verschiedene Immunkompartimente. CD8+ T-Zellen sind ein Hauptbestandteil der allogenen Immunantwort und können unabhängig von CD4+ T-Zellen zu Effektor-T-Zellen/Gedächtnis-T-Zellen differenzieren. Zur Untersuchung des Einflusses von seneszenten CD8+ T-Zellen wurde ein Maustransplantationsmodell eingesetzt. Jungen (3 Monate) und alten Mäusen (18 Monate) wurde allogene Haut transplantiert, um den Einfluss der CD8+ T-Zellen auf das Transplantatüberleben zu analysieren.

In alten Organempfängern konnte ein verlängertes Transplantatüberleben nachgewiesen werden, das mit einem Anstieg von CD4+ und CD8+ CD44^{high} CD62^{Low} Effektor-T-Zellen/Gedächtnis-T-Zellen einherging. Zudem kam es im Alter zu einer systemisch reduzierten Interferon- γ Produktion, die die Abstoßungsreaktion und so das Transplantatüberleben im vorliegenden Modell altersspezifisch veränderte. In jungen CBA Rag-1 Mäusen, die *per se* keine differenzierten T- und B-Zellen aufwiesen, wurden mit Hilfe eines adoptiven Transfers CD8+ T-Zellen rekonstituiert, die einen klonalen anti-H2K T-Zell Rezeptor aufwiesen, der reaktiv für das MHC I Molekül war. Das Transplantatüberleben war signifikant verlängert, wenn für den adoptiven Transfer alte transgene CD8+ T-Zellen eingesetzt worden sind. Das verlängerte Transplantatüberleben konnte somit auch in jungen Mäusen beobachtet werden, wenn diese mit seneszenten CD8+ T-Zellen rekonstituiert waren. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die systemische Reduktion von Interferon- γ in alten Organempfängern mit einer kompromittierten Expression der β -Einheit des Interleukin 2-Rezeptors (CD122) einherging. Die Aktivierung des Interleukin 2-Rezeptors führte in alten Mäusen zu einer geminderten Produktion von Interferon- γ . Die Genanalyse konnte nachweisen, dass alte CD8+ T-Zellen weniger Chemokinligand 3 und CD40L exprimieren. Dadurch war die Kommunikation von CD8+ T-Zellen und dendritischen Zellen gestört, was zu einer Abnahme der Migration und Phagozytose von CD11c+ führen kann. Zusammenfassend konnte die Studie zeigen, dass das Transplantatüberleben in alten Mäusen verlängert ist. Seneszente CD8+ T-Zellen produzieren weniger Interferon- γ und bedingen ein verlängertes Transplantatüberleben. Mechanistisch weisen diese Zellen einen defekten Signalweg des IL-2 Rezeptors auf, der zu einer kompromittierten Kommunikation zu dendritischen Zellen führt. (Auszug aus dem Originalabstrakt, zusammengefasst durch den Autor)⁶⁶

2.2.3 Untersuchung der Rolle CD11c⁺ dendritischer Zellen älterer Organspender für die akute Abstoßungsreaktion

Oberhuber R, Heinbokel T, Cetina Bieffer HR, Boenisch O, Hock K, Bronson RT, Wilhelm MJ, Iwakura Y, Edtinger K, Uehara H, Quante M, Voskuil F, **Krenzien F**, Slegtenhorst B, Abdi R, Pratschke J, Elkhaj A, Tullius SG. CD11c⁺ Dendritic Cells Accelerate the Rejection of Older Cardiac Transplants via Interleukin-17A. *Circulation*. 2015;132:122–131. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.014917>

In der Organtransplantation werden zunehmend Organe älterer Spender transplantiert, wenngleich die Transplantationsergebnisse mit Transplantatüberleben und Gesamtüberleben nachteilig sind. Der Einfluss des Spenderalters auf die Organtransplantation ist bisher unzureichend untersucht worden. Das Ziel der experimentellen Studie war es, anhand eines murinen Herztransplantationsmodells die Rolle des Spenderalters auf die akute Abstoßungsreaktion zu untersuchen und die Rolle der vom Spender stammenden CD11c⁺ dendritischen Zellen zu untersuchen.

Ältere Herzen zeigten im Vergleich zu jungen Herzen ein kürzeres Transplantat-Überleben. Ein kürzeres Transplantatüberleben von älteren Herzen war unabhängig vom Organalter, wenn alte Organe mit jungen Leukozyten passager besiedelt wurden. Diese re-besiedelten alten Organe wiesen vergleichbare Überlebenszeiten auf, wie transplantierte junge Organe. Interessanterweise lösten die im Transplant befindlichen CD11c⁺ dendritische Zellen eine proinflammatorische Alloimmunantwort aus, die eine CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellproliferation des Empfängers induzierten. Zudem kam es zu einem Anstieg der Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen, wie Interleukin-17A. Dem verkürzten Transplantatüberleben konnte durch Depletion der CD11c⁺ dendritischen Zellen des Spenders, durch die Neutralisierung von Interleukin-17A oder die Transplantation von älteren Herzen in IL-17A (-/-) Knockout-Mäusen entgegengewirkt werden. Die allogene Immunantwort war in diesen Mäusen abgeschwächt und vergleichbar mit denen, die ein junges Herz transplantiert bekamen.

Diese Ergebnisse unterstreichen die wichtige Rolle von alten CD11c⁺ dendritischen Zellen des Organspenders, die eine verstärkte Alloimmunantwort im Organempfänger hervorrufen. Die dendritischen Zellen führen zu einer verstärkten IL-17A Produktion und bedingen ein verkürztes Transplantatüberleben. Daher ist Interleukin-17A ein mögliches neues Therapieziel der Immunsuppressiven Therapie, wenn ältere Organe transplantiert werden. (Auszug aus dem Originalabstrakt, zusammengefasst durch den Autor)⁶⁷

3 Diskussion

Die in den letzten Jahren zunehmend steigende Lebenserwartung führt zu einem Anstieg des Anteiles älterer Patienten. Obwohl sich diese Patientengruppe von jüngeren Patienten in vielerlei Hinsicht unterscheidet, wird sie in klinischen Studien der Organtransplantation und Onkologie nicht ausreichend berücksichtigt. In einer Metaanalyse von 573 randomisierten Studien über nierentransplantierte Patienten aus den USA wurde bei 30% das Alter als ein Ausschlusskriterium festgelegt, wobei 16% der Studien Patienten ≥ 65 Jahre ausschlossen.⁶⁸ In einer Analyse von mehr als 490 onkologischen Studien waren nur 32% der Teilnehmer in klinischen Studien der Phasen II und III ältere Menschen, verglichen mit 61% der Patienten mit Tumor Erkrankungen in der Normalbevölkerung.⁶⁹ Daher sind ältere Menschen in der Studien der Onkologie und Transplantationsmedizin relativ unterrepräsentiert. Gleichsam sind sie häufiger multimorbide, aufgrund dessen sie entsprechend den Studienprotokollen häufiger aus Studien ausgeschlossen. Die Übertragbarkeit der Erkenntnisse der Studienergebnisse auf ältere Patientenkohorten ist folgerichtig erschwert, da die älteren Patienten andere Charakteristika aufweisen. In der Tat kommt es im Alter auf zellulärer Ebene zu Veränderungen mit der Modulation von Stoffwechselprozessen mit Auswirkungen auf verschiedenste Organfunktionen und physiologische Prozesse. Die Immunoseneszenz der verschiedenen Kompartimente des Immunsystems führt zu einer veränderten Immunantwort auf bekannte und neue Antigene.³⁷ Darüber hinaus verändert sich das Wirkungsprofil der Immunsuppressiva mit Veränderung von Pharmakokinetik und Pharmakodynamik.⁷⁰ In der vorliegenden kumulativen Habilitationsschrift wurden die Immunoseneszenz, die Wirkung von TAC im Kontext der Organtransplantation dargestellt und die Leberteilresektion als konkurrierendes Verfahren zur Lebertransplantation für die Therapie des HCC untersucht.

Die kurative Therapie eines HCC umfasst die Lebertransplantation oder Leberteilresektion. Aus onkologischer Perspektive ist die Lebertransplantation der Leberteilresektion überlegen, da mit der Transplantation die chronische Leberzellschädigung therapiert wird, die die Ursache der Pathogenese des HCC darstellen kann.⁷¹ Hingegen wird es durch Zunahme marginaler Spenderorgane mit schlechter Organfunktion, einer Abnahme der Organspendebereitschaft und Zunahme der Inzidenz des HCC immer schwieriger, passende Organe für Patienten zu finden und zu allozieren.^{72,73} Alternativ kann bei diesen Patienten eine Leberteilresektion durchgeführt werden. Der Vorteil besteht in der hohen Verfügbarkeit, da u.a. kein passendes Spenderorgan gefunden werden muss. Die Durchführbarkeit ist jedoch nur möglich, sofern die postoperative Leberfunktion ausreichend ist, die durch eine möglichen Leberfibrose oder Leberzirrhose limitiert werden kann. Ist die Leber bereits zu stark zirrhotisch umgebaut, ist die Leberregeneration vermindert und der Patient kann ein lebensbedrohliches PHLF entwickeln.⁷⁴ Bezüglich eines Überlebensvorteils nach Lebertransplantation oder Leberteilresektion ist die Studienlage kontrovers.⁷⁵ Hinzu kommt, dass gerade auf dem Gebiet der Bestimmung der präoperativen Leberfunktion zur Abschätzung des Risikos eines möglichen PHLF Fortschritte gemacht wurden. In den letzten Jahren wurde die laparoskopische Leberteilresektion zunehmend für Patienten mit einer Leberzirrhose eingesetzt, da der minimal-invasive Zugangsweg hierbei offensichtlich einen Vorteil bietet.⁷⁶

In der ersten Studie aus Kapitel **2.1.1** wurde das Langzeitüberleben nach Lebertransplantation und Leberteilresektion für Patienten mit einem HCC untersucht (n = 364).⁷⁷ Das Ziel dieser Studie war es, herauszufinden, ob eine Optimierung des perioperativen Managements zu einer

Veränderung der klinischen Ergebnisse führt. Dafür wurden die Daten von Patienten mit einem HCC in Leberzirrhose zwischen 1989–2004 sowie 2005–2011 evaluiert. Es wurden ausschließlich Patienten untersucht, die die Mailand-Kriterien erfüllten, die zur Vergabe der *Standard-Exceptions* für eine Lebertransplantation führen. Interessanterweise kam es zu einer Verbesserung der Überlebensrate nach Leberteilresektion zwischen der alten und neuen Zeitepisode, wohingegen für die Lebertransplantation zwischen beiden Zeitepisoden kein Unterschied bestand. Darüber hinaus war in der Zeitspanne von 2005–2011 die Überlebensrate für Patienten mit einem HCC innerhalb der Mailandkriterien mit Leberzirrhose zwischen Lebertransplantation und Leberresektion vergleichbar (5-Jahres Überlebensrate: 73% vs. 61%, $P = 0,07$), obwohl die leberresezierten Patienten signifikant älter waren ($P < 0,05$) und einen signifikant größeren Tumordurchmesser aufwiesen als in der Transplantationsgruppe ($P = 0,001$). Das krankheitsfreie Überleben war nach Lebertransplantation im Vergleich zur Leberteilresektion in beiden zeitlichen Episoden höher, wenngleich auch diesbezüglich eine Verbesserung der Ergebnisse nach Leberteilresektion im zeitlichen Verlauf festzustellen war. Der Vergleich zur Literatur ist erschwert, da die meisten Studien die Mailand-Kriterien für die Leberteilresektion nicht anwenden und zudem randomisierte prospektiven Studien nicht verfügbar sind. In einer Meta-Analyse von Zheng et al. wurden 62 Beobachtungsstudien ausgewertet.⁷⁸ Es konnte eine verbesserte Überlebensrate mit geringerer Rezidivrate für die Lebertransplantation bei Patienten mit einem HCC festgestellt werden. In einer weiteren Meta-Analyse wurde aufgezeigt, dass die Lebertransplantation erst einen Überlebensvorteil nach einem Beobachtungszeitraums von 10 Jahren aufweist, wenngleich bereits nach 3 Jahren ein Vorteil für das krankheitsfreie Überleben (*englisch für disease-free survival, DFS*) besteht.⁷⁹ Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, dass die Lebertransplantation weiterhin die Therapie der Wahl für Patienten mit einem HCC in Zirrhose ist, wenngleich nicht jeder Patient aufgrund von Tumorcharakteristika, Komorbiditäten oder Alkoholkonsum für eine Organtransplantation geeignet ist. Somit ist die Leberteilresektion vor allem für Patienten im höheren Alter (>70 Jahre) bei prinzipieller Operabilität die Therapie der Wahl. Der Zunahme der immer älter werdenden Patienten und dem hohen Alter bei Diagnosestellung des HCC (> 70 Jahre) kann so begegnet werden.² Die Gründe der verbesserten Ergebnisse im zeitlichen Verlauf nach Leberteilresektion aus Kapitel 2.1.1 können unterschiedlicher Genese sein und können in der Verbesserung der Leberchirurgie mit dem Einsatz von laparoskopischen Techniken, dem Einsatz von multimodalen Therapien bei Tumorrezidiven und der Verbesserung des perioperativen Managements bei Leberzirrhose liegen.^{80,81} Anhand einer systematischen Übersichtsarbeit geht die laparoskopie Leberteilresektion einher mit weniger Blutverlust, schnellerem Kostenaufbau, reduzierten Schmerzmittelbedarf, jedoch ohne Unterschied in den Komplikationsraten (Studien eingeschlossen bis 2010).⁸² In kürzlich veröffentlichten Studien sind geringe Komplikationsraten für die Laparoskopie festzustellen, nicht zuletzt, weil diese Technik eine deutliche Lernkurve des Chirurgen aufzeigt und die laparoskopischen Instrumente besser werden.⁸⁰

Die Beurteilung der Güte der Therapien des HCC erfolgt typischerweise anhand des Gesamtüberlebens, des krankheitsfreien Überlebens oder histopathologischer Kriterien wie der Rate an R0-Resektionen (Entfernung des Tumors im Gesunden).⁸³ Diese parametrischen Charakteristika sind für die chirurgische Therapie das Kriterium der Wahl und Schwerpunkt der aktuellen internationalen Forschung.⁸⁴ Im Gegensatz dazu wird der Einfluss auf die Lebensqualität und die psychische Gesundheit im chirurgischen Alltag ungenügend berücksichtigt. Dies ist allerdings ein wichtiger Faktor für den jeweiligen Patienten, da eine Leberteilresektion

oder Organtransplantation ein kritisches Lebensereignis darstellt. Die Lebertransplantation erfordert eine lebenslange Immunsuppression und eine Anbindung an ein Transplantationszentrum. Dies kann nur mit einer hohen Compliance des Patienten erreicht werden. Ein hohes Lebensalter ist in Deutschland per se kein Ausschlusskriterium entsprechend der Richtlinien zur Organtransplantation gem. § 16 TPG,³⁰ jedoch werden Patienten aufgrund des hohen operativen Risikos, welche mit schlechteren klinischen Ergebnissen einhergehen, typischerweise nicht für eine Lebertransplantation gelistet. Zudem ist nicht jeder Patient für eine Lebertransplantation geeignet, da kardiovaskuläre Komorbiditäten, maligne Vorerkrankungen, oder ein florider Alkoholabusus Kontraindikationen darstellen.^{30,32,33} In der zweiten Studie **2.1.2** wurden daher Angststörung, Depression, Fatigue und Lebenszufriedenheit nach der Lebertransplantation erfasst und zwischen jungen und alten Patienten (> 65 Jahre) verglichen (n = 689).⁶³ Die Häufigkeit der Angststörung zwischen den verschiedenen Altersgruppen war gleich verteilt. Die Lebenszufriedenheit bei Patienten ≥ 70 Jahren war signifikant besser als bei Patienten < 60 Jahre. Auch wenn Fatigue, Depression, Angststörung und reduzierte Lebensqualität in der Altersgruppe > 70 Jahre vorlagen, waren diese Faktoren in vergleichbarer Ausprägung vorhanden wie bei jüngeren Patienten. Auf Grundlage dieser vorliegenden Daten stellt das Alter per se keine Kontraindikation für eine Lebertransplantation in Bezug auf die untersuchten Parameter dar. Vergleichend konnte in einer Studie gezeigt werden (SF-36 Fragebogen), dass lebertransplantierte Patienten > 60 Jahre in Bezug auf physische Funktion, körperliche Aktivität, Schmerzen, Gesundheit, Vitalität und soziale Fähigkeiten (jeweils $P < 0,05$) ein schlechteres Ergebnis im Vergleich zur Normalbevölkerung aufwiesen.⁸⁵ Anzumerken ist, dass die Normalbevölkerung als Kontrollgruppe herangezogen wurde und somit nicht klar ist, ob die Lebertransplantation als Surrogatmarker den gefundenen Unterschied begründet. Eine Kontrollgruppe bestehend aus jungen lebertransplantierten Patienten (< 60 Jahre) hätte die Generalisierbarkeit der Ergebnisse erhöht. Pelgur et al. konnten zeigen, dass Angstzustände und Depressionen signifikant häufiger bei Patienten > 46 Jahre vorzufinden sind als bei jüngeren Patienten.⁸⁶ Dennoch waren die Altersgruppen deutlich jünger im Vergleich zu unserer vorliegenden Analyse. Des Weiteren fehlte die genaue Angabe weiterer Patientencharakteristika.

Aufgrund der bereits aufgeführten Kontroverse bedingt durch den ubiquitären Organspendemangel und die zunehmende Vergreisung der Organspender und Organempfänger, ist eine Lebertransplantation für die Therapie des HCC nicht immer durchführbar. Patienten mit floridem Alkoholkonsum, malignen Vorerkrankungen oder hohem kardiovaskulären Risikoprofil sind für eine Lebertransplantation nicht geeignet.³⁰ Darüber hinaus führt ein Spenderpool, bestehend aus immer älteren Organspendern, zu einer reduzierten Qualität der Lebertransplantate.⁷³ Interessanterweise kam es auf dem Gebiet der Leberteilresektion in den letzten Jahren zu einer technischen Revolution. Die Laparoskopie wurde bisher vor allem auf dem Gebiet der Hernienoperation und der Chirurgie des Gastrointestinaltrakts eingesetzt. Neue technische Innovationen ermöglichen inzwischen den Einsatz der Laparoskopie auf dem Gebiet der Leberteilresektion. Der generell hohe Schwierigkeitsgrad einer laparoskopischen Leberresektion liegt vor allem in der komplexen Anatomie der Leber, der Gefäßversorgung, der Parenchydissektion und etwaigen biliodigestiven Rekonstruktionen begründet. Erschwerend kommt hinzu, dass chirurgische Techniken in hohem Maße einer individuellen Lernkurve des Chirurgen unterliegen.⁸⁷ Die internationale Konsensuskonferenz für laparoskopische Leberchirurgie hat daher die sogenannten Iwate-Kriterien veröffentlicht, um die präoperative Abschätzung des

Schwierigkeitsgrades einer laparoskopischen Leberteilresektion zu ermöglichen.⁸⁸ Dies soll zum Beispiel ein systematisches Heranführen der Chirurgen an laparoskopische Leberteilresektion gewährleisten. In der dritten Studie **2.1.3** wurden die Iwate-Kriterien anhand von Patienten mit einem HCC erstmalig evaluiert.⁶⁴ Die Iwate-Kriterien sind eine Weiterentwicklung des *Difficulty Scoring System* (DSS), welches von Herrn Wakabayshi als *Perspective on Techniques and Innovation* publiziert wurde.⁸⁹ Wir konnten als erste Arbeitsgruppe nachweisen, dass die Iwate-Kriterien für Patienten mit einem HCC angewendet werden können (n = 77). Hierbei korrelierte ein hoher Schwierigkeitsgrad signifikant mit der Dauer der Operation, einer eingeschränkten Leberfunktion (Zytochrom P450 Aktivität), der Dauer des Krankenhausaufenthaltes und dem Auftreten der postoperativer Komplikationen (P < 0,05). Dies bedeutet, dass man bereits *a priori* die Schwierigkeit einer Leberresektion bestimmen kann und so die Auswahl des Operationsteams anhand der Schwere des geplanten Eingriffes festlegen kann. Des Weiteren kann so ein chirurgisches Curriculum erstellt werden, um auch für junge Chirurgen eine graduierte Ausbildung zu ermöglichen. Dies ist von besonderer Bedeutung, da die zunehmenden ökonomischen Zwänge zu einer Veränderung der Aus- und Weiterbildung in der heutigen Zeit führen. Darüber hinaus waren die Iwate-Kriterien dem DSS in Bezug auf Diskriminierung und Kalibrierung überlegen. Neben den genannten Parametern der Iwate-Kriterien gibt es andere Faktoren, wie Adipositas, oder die Thrombozytenzahl, die einen Einfluss auf eine Leberteilresektion haben.^{90,91} In einer Umfrage von Chirurgen (n = 80) wurde der wahrgenommene Einfluss von Parametern evaluiert, die prädiktiv eine laparoskopische Leberteilresektion beeinflussen und zuvor in Studien einen Zusammenhang aufwiesen.⁹² Die Ergebnisse zeigen, dass die bestehenden Risikoklassifikationen für laparoskopische Leberteilresektion nicht mit den wahrgenommenen Faktoren übereinstimmen. Die Autoren schlussfolgern, dass neue Studien notwendig sind, um diesen Umstand zu berücksichtigen. Zusammenfassend waren die Iwate-Kriterien leicht umsetzbar und ermöglichen es, vor einer laparoskopischen Leberteilresektion den Schwierigkeitsgrad zu erheben.

Neben den physischen Veränderungen ist eine Seneszenz des Immunsystems im Alter festzustellen. Die Zusammenhänge sind im Kontext der Organtransplantation von besonderer Bedeutung, da die allogene Immunantwort modifiziert ist und Immunsuppressiva möglicherweise eine veränderte Wirkung aufweisen. In der vierten Studie **2.2.1** wurden die altersspezifischen Effekte des Calcineurin-Inhibitors TAC in einem Transplantationsmodell der Maus untersucht und die modulatorischen Eigenschaften von CD4+ T-Zellen untersucht.⁶⁵ TAC führte zu einer Verlängerung des Transplantatüberlebens in alten Mäusen, im Vergleich zur Transplantatüberlebenszeit in jungen Mäusen. Die Dosis von TAC wurde dabei an das Körpergewicht und an die Serum-Spiegel angepasst. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die Zytokinproduktion verändert ist und es nach Aktivierung der T-Zellen zu einem geminderten Calciumeinstrom unter TAC-Gabe kam. Die gesteigerte Inhibierung von Calcineurin und der geminderte Calciumeinstrom konnten *in-vitro* mit humanen CD4+ T Zellen bestätigt werden. Die akute Abstoßung nimmt mit steigendem Patientenalter ab, jedoch sind Zusammenhänge zwischen Alter und immunsuppressiver Therapie bisher nicht ausreichend untersucht worden.³⁷ Des Weiteren wird das Konzept der Immunoseneszenz für die immunsuppressive Therapie nicht berücksichtigt. Der altersspezifische Effekt des in der Organtransplantation viel eingesetzten TAC auf CD4+ T-Zellen kann die Effekt der Immunoseneszenz adressieren und eine angepasste, niedrigere Dosierung begründen. Die Datenlage zum Konzept der altersadaptierten Immunsuppression für Tacrolimus ist bisher gering.³⁷ In einer prospektiven Studie wurden die Talspiegel von TAC bei Nierentransplantierten gemessen und es konnte gezeigt werden, dass Patienten > 65 Jahre im Vergleich zu jüngeren

Patienten nur die halbe Dosis benötigten (angepasst an das Körpergewicht), um vergleichbare Talspiegel zu erreichen.⁴⁹ Folglich wurden niedrigere absolute Dosen verwendet, um die gleichen Talspiegel im Blut zu erreichen. Anzumerken ist, dass der sogenannte First-Pass-Effekt, welcher im Alter nachweislich reduziert ist, die Spitzenspiegel verändert und so eine veränderte Fläche unter der Kurve (*englisch für Area under the curve*) vermuten lässt.⁹³ Des Weiteren scheint die immunsuppressive Wirkung von TAC auf CD4+ T-Zellen verändert zu sein, und das Transplantatüberleben, zumindest im Mausmodell, im Alter zu verlängern. Weitere Studien sind notwendig, um die pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Effekte von TAC unter Einschluss und Subgruppierung von Patienten > 65 Jahre zu untersuchen.^{94,95}

Die CD8+ T-Zellen sind neben den CD4+ T-Zellen der Hauptbestandteil der allogenen Immunantwort und bilden Effektor- und Gedächtniszellen. In der fünften Studie **2.2.2** wurde der Einfluss des Alters auf CD8+ T-Zellen anhand eines Maustransplantationsmodells untersucht.⁶⁶ Neben dem Nachweis einer Verlängerung des Transplantatüberlebens bei alten Organempfängern konnte gezeigt werden, dass CD8+ T-Zellen weniger Interferon- γ produzieren und einen defekten Signalweg des Interleukin-2 Rezeptors aufweisen. Die reduzierte Interferon- γ Sekretion konnte in anderen Studien bestätigt werden.^{96,97} Die Genanalyse mit einer PCR-Reihe zeigte, dass alte CD8+ T Zellen weniger Chemokinligand 3 und CD40L exprimieren, was eine schlechtere Kommunikation zwischen CD8+ T-Zellen und dendritischen Zellen zur Folge hat. Der Oberflächenligand CD40L ist ein kostimulatorisches Molekül und verstärkt die Immunantwort von T-Zellen sowie die Produktion von Interleukin-12 in dendritischen Zellen.⁹⁸ Kommt es nun zu einer verminderten Expression von CD40L, so werden die dendritischen Zellen nicht aktiviert und eine verminderte alloantigene Aktivierung ist die Folge.

Aufgrund der veränderten Altersstruktur der Organspender aber auch durch den ubiquitären Organmangel werden zunehmend ältere Lebern mit nachrangiger Qualität transplantiert.⁷³ Gleichzeitig führt die Transplantation von älteren Lebern mit längerem intensivmedizinischen Aufenthalt oder kompromittierter Leberfunktion in der Anamnese zu schlechteren klinischen Ergebnissen.⁹⁹ Beispielsweise werden ältere Organe häufiger abgestoßen als jüngere.⁹ Die immunologischen Mechanismen, die mit der Transplantation von älteren Organen auftreten, sind daher von übergeordneter Bedeutung und weisen eine zunehmende Relevanz auf, die im Kontext der Vergreisung der Transplantationsmedizin steht. In der sechsten experimentellen Studie **2.2.3** wurde der Einfluss des Spenderalters in einem murinem Herz-Transplantationsmodell untersucht.⁶⁷ Ein verkürztes Transplantatüberleben war bei höherem im Vergleich zu niedrigerem Spenderalter zu beobachten. Interessanterweise konnte dieser Effekt aufgehoben werden, wenn die alten Spender mit 11 Gray bestrahlt wurden und anschließend mit Knochenmark von jungen Spendern rekonstituiert wurden. Die sogenannte Th17 Subpopulation der CD4+ T-Zellen ist charakterisiert durch die Sekretion des proinflammatorischen Zytokins IL-17A. Verschiedene Studien konnten zeigen, dass Th17 T-Zellen im Alter zunehmen, wengleich deren Einfluss auf die Immunantwort auf ältere Transplantate unbekannt ist.^{100,101} Die Daten der vorliegenden Studie zeigten einen signifikanten Anstieg von IL-17A mRNA in den alten transplantierten Allotransplantaten. Die verstärkte IL-17A Immunantwort konnte in-vitro durch die Ko-Kultivierung von naiven CD4+ T-Zellen in Th-17 polarisierenden Bedingungen mit alten und jungen CD11c+ dendritischen Zellen hervorgerufen werden. Dabei war ein signifikanter Anstieg von IL-17A festzustellen, wenn die CD4 T-Zellen mit alten allogenen dendritischen Zellen stimuliert worden waren. Darüberhinaus konnte gezeigt werden, dass, wenn IL-17A mit einem Antikörper im

Mausmodell geblockt wird, oder eine IL-17A Knockout Maus eingesetzt wird, das Transplantatüberleben von alten Organspendern verlängert werden kann. So konnte der initiale altersabhängige Effekt des Spenderalters auf das Transplantatüberleben aufgehoben werden. Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass das Spenderalter nicht nur die Organqualität beeinflusst, sondern die Leukozyten im Transplantat die Immunantwort altersspezifisch modulieren und ältere CD11c+ dendritische Zellen eine IL-17A proinflammatorische Immunantwort bedingen. Auch wenn die erhobenen Daten experimentell sind, begründen sie sich auf klinische Studien und Zusammenhänge.^{9,102} Entscheidend wird es sein, die gewonnenen Erkenntnisse auch im humanen Modell zu translatieren. Der durch ein höheres Spenderalter bedingte IL-17A Effekt mit verstärkter proinflammatorischer Immunantwort und verkürztem Transplantatüberleben kann so prinzipiell als zielgerichtet Therapie eingesetzt werden.

4 Zusammenfassung

Die Lebertransplantation und Leberteilresektion sind die einzigen kurativen Therapieoptionen des hepatozellulären Karzinoms (HCC), das weltweit die zweithäufigste Tumor-assoziierte Todesursache darstellt.¹ Gleichzeitig führt der demographische Wandel zu einer veränderten Altersstruktur der Patienten. Das mediane Alter der Organspender und Organempfänger ist in den letzten Jahren um mehr als 20 Jahre gestiegen.^{3,4} In Europa liegt das mediane Alter bei Diagnosestellung eines HCC bei > 70 Jahren.² Interessanterweise ist der Alterungsprozess charakterisiert durch die Modulation von Stoffwechselprozessen mit Auswirkungen auf Organfunktionen und Organphysiologie. Beispielsweis führt die Immunoseneszenz der verschiedenen Kompartimente zu einer veränderten allogenen Immunantwort.³⁷ In der Tat ist das Risiko einer Organabstoßung nach Transplantation im höheren Lebensalter geringer, wengleich das Abstoßungsrisiko bei einem höheren Spenderalter zunimmt.⁹ Darüber hinaus nimmt im Alter die Inzidenz von Tumorerkrankungen, Diabetes mellitus oder sogenannter nosokomialer Infektionen zu.⁶⁻⁸ Trotzdem werden ältere Patienten in klinischen Studien oft nicht berücksichtigt oder basierend auf dem jeweiligen Studienprotokoll aktiv von Studien ausgeschlossen.^{10,11} Dies ist insofern höchst problematisch, als gewonnene Studienergebnisse im Rahmen von Therapien auf ältere Patienten übertragen werden. In der vorliegenden kumulativen Habilitationsschrift wurde daher die Leberteilresektion als konkurrierendes Verfahren zur Lebertransplantation für die Therapie des HCC klinisch und die Immunoseneszenz im Kontext der Organtransplantation experimentell untersucht.

Im klinischen Abschnitt der Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Leberteilresektion verbesserte Überlebensraten für die kurative Therapie des HCC aufzeigt und eine Alternative zur Lebertransplantation darstellt.⁶² Dies ist von übergeordneter Bedeutung, da häufig ältere Patienten (> 65 Jahre) von einer Transplantation ausgeschlossen werden, weil sie beispielsweise aufgrund von kardiovaskulären Vorerkrankungen ein hohes perioperatives Operationsrisiko haben.^{32,33} Andere Kontraindikationen für die Lebertransplantation sind maligne Vorerkrankungen, fehlende Compliance oder ein florider Alkoholabusus, die eine Leberteilresektion begründen können.³⁰ Die Lebensqualität und psychosoziale Gesundheit sind für ältere Patienten unzureichend untersucht und über die Effekte der Lebertransplantation auf diese Lebensbereiche konnte bisher nur gemutmaßt werden. Erstmalg konnte in einem Vergleich gezeigt werden, dass ältere (> 65 Jahre) und jüngere Patienten bezüglich ihrer Lebensqualität nach Lebertransplantation keinen Unterschied aufweisen.⁶³ Dies ist insofern bemerkenswert, als diese Patientengruppe oft multimorbide ist und ein erhöhtes Risikoprofil für weitere Erkrankungen aufweist. Offensichtlich hat hier die Lebertransplantation einen positiven Effekt auf die Lebensqualität und die psychische Gesundheit. Die Leberteilresektion kann alternativ zur Lebertransplantation für die Therapie des HCC eingesetzt werden. Zum Abschätzen des Schweregrades einer Leberteilresektion wurden die Iwate-Kriterien von der internationalen Konsensuskonferenz für laparoskopische Leberchirurgie veröffentlicht.⁸⁸ Die Kriterien konnten erstmalig im Rahmen einer Studie angewandt und überprüft werden.⁶⁴ Ein hoher Schwierigkeitsgrad der laparoskopischen Leberteilresektion war signifikant assoziiert mit der Operationsdauer, den postoperativen Komplikationen und der präoperativen Leberfunktion ($P < 0,05$). Dies ist im Kontext der chirurgischen Ausbildung und Operationsplanung wichtig, da die Auswahl des Operateurs bereits *a priori* an den Schweregrad angepasst werden kann. Eine lebenslange Immunsuppression nach Lebertransplantation ist zur Prophylaxe der akuten Organabstoßung unabdingbar. Die Organspender und Organempfänger werden jedoch immer

älter und weisen Veränderungen des Immunsystems auf. Im experimentellen Abschnitt der Arbeit wurden daher die Immunoseneszenz und deren Auswirkung auf die Organtransplantation untersucht. Tacrolimus (TAC) ist ein Calcineurininhibitor der zur Erhaltungstherapie der Immunsuppression eingesetzt wird. In einem Maustransplantationsmodell wurde die altersspezifische Wirkung von TAC untersucht.⁶⁵ Interessanterweise benötigten ältere Mäuse, verglichen mit jungen Mäusen, nur die Hälfte der Dosis, um den gleichen Talspiegel von TAC zu erreichen. Darüber hinaus führte die Gabe von TAC, angepasst an das Körpergewicht oder den Talspiegel, bei älteren Mäusen, im Vergleich zu jungen Mäusen, zu einer Verlängerung des Transplantatüberlebens. Nach Antigenaktivierung konnte eine veränderte Zytokinsekretion mit Abnahme des Calciumeinstroms in humane CD4⁺ T-Zellen gemessen werden. Diese Erkenntnisse sind nicht direkt auf den Menschen übertragbar, jedoch unterstreichen sie die Relevanz einer möglichen altersadaptierten Gabe von TAC. CD8⁺ T-Zellen sind neben den CD4⁺ T-Zellen der Hauptbestandteil der allogenen Immunantwort. In einem murinen Transplantationsmodell zeigten ältere Mäuse ein verlängertes Transplantatüberleben, welches mit einer Abnahme der Interferon- γ Produktion nach Stimulation des Interleukin-2 Rezeptors einherging.⁶⁶ Darüber hinaus war die Kommunikation von dendritischen Zellen und CD8⁺ T-Zellen durch eine geringere Expressierung von Chemokinligand 3 und CD40L gestört. Die Immunoseneszenz bedingt nicht nur eine Veränderung der Wirkung von Immunsuppressiva, sondern auch die alloantigene Immunantwort nach Organtransplantation. Neben den immer älter werdenden Organempfängern werden auch die Organspender immer älter.^{3,4} In einem Herztransplantationsmodell wurde folglich der Einfluss älterer Spenderorgane und der im Transplantat befindlichen CD11c⁺ dendritischen Zellen untersucht.⁶⁷ Ältere Spenderorgane gingen einher mit einem verkürzten Transplantatüberleben. Zudem wurde in CD11c⁺ dendritischen Zellen des Organspenders eine gesteigerte IL-17A Immunantwort hervorgerufen, die zum verkürzten Transplantatüberleben führte. Interessanterweise konnte die Effekte in einem IL-17A Knockout-Modell nicht mehr nachgewiesen werden.

Zusammenfassend weisen die Lebertransplantation und die Leberteilesektion verschiedene Vor- und Nachteile auf, die einen differenzierten Einsatz beider Verfahren für die kurative Therapie des HCC begründen. Ein hohes Alter ist *per se* keine Kontraindikation für eine Lebertransplantation. In der Tat ist die Lebensqualität älterer Organempfänger nach Lebertransplantation vergleichbar mit der junger Organempfänger. Für die immunsuppressive Therapie nach Lebertransplantation ist es entscheidend, das Alter des Organspenders und des Organempfängers zur berücksichtigen, da die Immunoseneszenz zu einer veränderten allogenen Immunantwort führt. Die laparoskopische Leberteilesektion kann als konkurrierendes Verfahren zur Lebertransplantation für die Therapie des HCC eingesetzt werden. Der Vorteil der Leberteilesektion besteht in der hohen Verfügbarkeit in den jeweiligen spezialisierten Zentren, da in Zeiten des ubiquitären Organmangels kein passender Spender gefunden werden muss. Auffallend ist, dass die onkologischen Ergebnisse nach Leberteilesektion in den letzten Jahren deutlich verbessert worden sind und die revolutionierenden laparoskopischen Techniken die chirurgischen Standards der Leberteilesektion neu definieren.

5 Literaturverzeichnis

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J cancer*. 2015;136:E359-86.
2. Yang JD, Altekruse SF, Nguyen MH, et al. Impact of country of birth on age at the time of diagnosis of hepatocellular carcinoma in the United States. *Cancer*. 2017;123:81-89.
3. Eurotransplant International Foundation. Annual Report 1995.
4. Eurotransplant International Foundation. Annual Report 2016.
5. Pereira BI, Akbar AN. Convergence of innate and adaptive immunity during human aging. *Front Immunol*. 2016;7:445.
6. Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*. 2015;65:87-108.
7. Prevention C for DC and. National diabetes statistics report, 2017. Atlanta, GA Centers Dis Control Prev.
8. Avci M, Ozgenc O, Coskuner SA, et al. Hospital acquired infections (HAI) in the elderly: comparison with the younger patients. *Arch Gerontol Geriatr*. 2012;54:247-250.
9. Tullius SG, Milford E. Kidney Allocation and the Aging Immune Response. *N Engl J Med*. 2011;364:1369-1370.
10. Shenoy P, Harugeri A. Elderly patients' participation in clinical trials. *Perspect Clin Res*. 2015;6:184.
11. Singh H, Beaver JA, Kim G, et al. Enrollment of older adults on oncology trials: An FDA perspective. *J Geriatr Oncol*. 2017;8:149-150.
12. Chen WH, Kozlovsky BF, Effros RB, et al. Vaccination in the elderly: an immunological perspective. *Trends Immunol*. 2009;30:351-359.
13. Palmer S, Albergante L, Blackburn CC, et al. Thymic involution and rising disease incidence with age. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115:1883-1888.
14. Buchholz VR, Neuenhahn M, Busch DH. CD8+ T cell differentiation in the aging immune system: until the last clone standing. *Curr Opin Immunol*. 2011;23:549-54.
15. Moro-García MA, Alonso-Arias R, Lopez-Larrea C. When aging reaches CD4+ T-cells: phenotypic and functional changes. *Front Immunol*. 2013;4:107.
16. Sanders JL, Newman AB. Telomere Length in Epidemiology: A Biomarker of Aging, Age-Related Disease, Both, or Neither? *Epidemiol Rev*. 2013;35:112-131.
17. Qi Q, Liu Y, Cheng Y, et al. Diversity and clonal selection in the human T-cell repertoire. *Proc Natl Acad Sci*. 2014;111:13139-13144.
18. Dedeoglu B, Meijers RWJ, Klepper M, et al. Loss of CD28 on Peripheral T Cells Decreases the Risk for Early Acute Rejection after Kidney Transplantation. *PLoS One*. 2016;11:e0150826.
19. Leng Q, Bentwich Z, Borkow G. CTLA-4 upregulation during aging. *Mech Ageing Dev*. 2002;123:1419-21.
20. Kline GH, Hayden TA, Klinman NR. B cell maintenance in aged mice reflects both increased B cell longevity and decreased B cell generation. *J Immunol*. 1999;162:3342-3349.
21. Gibson KL, Wu Y, Barnett Y, et al. B-cell diversity decreases in old age and is correlated with poor health status. *Aging Cell*. 2009;8:18-25.
22. Frasca D, Diaz A, Romero M, et al. Age effects on B cells and humoral immunity in humans. *Ageing Res Rev*. 2011;10:330-335.

23. Herrero C, Sebastián C, Marqués L, et al. Immunosenescence of macrophages: reduced MHC class II gene expression. *Exp Gerontol.*;37:389–94.
24. Gayoso I, Sanchez-Correa B, Campos C, et al. Immunosenescence of human natural killer cells. *J Innate Immun.* 2011;3:337–43.
25. Linehan E, Fitzgerald D. Ageing and the immune system: focus on macrophages. *Eur J Microbiol Immunol.* 2015;5:14–24.
26. Adrover JM, Nicolás-Ávila JA, Hidalgo A. Aging: a temporal dimension for neutrophils. *Trends Immunol.* 2016;37:334–345.
27. Struecker B, Raschzok N, Sauer IM. Liver support strategies: cutting-edge technologies. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014;11:166–176.
28. O’Leary JG, Lepe R, Davis GL. Indications for liver transplantation. *Gastroenterology.* 2008;134:1764–1776.
29. Schoening WN, Buescher N, Rademacher S, et al. Twenty-Year Longitudinal Follow-Up After Orthotopic Liver Transplantation: A Single-Center Experience of 313 Consecutive Cases. *Am J Transplant.* 2013;13:2384–2394.
30. Richtlinien zur Organtransplantation gem. § 16 TPG Richtlinie gemäß § 16 Abs. 1 S. 1 Nrn. 2u. 5 TPG für die Wartelistenführung und Organvermittlung zur Lebertransplantation. *Dtsch Arztebl Int.* 2016;113:346.
31. Jiménez-Romero C, Maestro OC, Molero FC, et al. Using old liver grafts for liver transplantation: where are the limits? *World J Gastroenterol WJG.* 2014;20:10691.
32. Dayoub JC, Cortese F, Anžič A, et al. The effects of donor age on organ transplants: A review and implications for aging research. *Exp Gerontol.*
33. Jochmans I, van Rosmalen M, Pirenne J, et al. Adult liver allocation in Eurotransplant. *Transplantation.* 2017;101:1542–1550.
34. Levitsky J, Goldberg D, Smith AR, et al. Acute rejection increases risk of graft failure and death in recent liver transplant recipients. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2017;15:584–593.
35. Shaked A, Ghobrial RM, Merion RM, et al. Incidence and severity of acute cellular rejection in recipients undergoing adult living donor or deceased donor liver transplantation. *Am J Transplant.* 2009;9:301–308.
36. Demetris AJ, Bellamy C, Hübscher SG, et al. 2016 Comprehensive Update of the Banff Working Group on Liver Allograft Pathology: Introduction of Antibody-Mediated Rejection. *Am J Transplant.* 2016;16:2816–2835.
37. Krenzien F, ElKhal A, Quante M, et al. A Rationale for Age-Adapted Immunosuppression in Organ Transplantation. *Transplantation.* 2015;99:2258–2268.
38. AlBugami M, Kiberd B. Malignancies: pre and post transplantation strategies. *Transplant Rev.* 2014;28:76–83.
39. Burra P, Rodriguez-Castro KI. Neoplastic disease after liver transplantation: Focus on de novo neoplasms. *World J Gastroenterol WJG.* 2015;21:8753.
40. Fishman JA. Infection in solid-organ transplant recipients. *N Engl J Med.* 2007;357:2601–2614.
41. Dharnidharka VR, Agodoa LY, Abbott KC. Risk factors for hospitalization for bacterial or viral infection in renal transplant recipients—an analysis of USRDS data. *Am J Transplant.* 2007;7:653–661.
42. Dharnidharka VR, Caillard S, Agodoa LY, et al. Infection Frequency and Profile in Different Age Groups of Kidney Transplant Recipients. *Transplantation.* 2006;81:1662–1667.
43. Shao M, Wan Q, Xie W, et al. Bloodstream infections among solid organ transplant

- recipients: epidemiology, microbiology, associated risk factors for morbidity and mortality. *Transplant Rev.* 2014;28:176–181.
44. Vidal E, Torre-Cisneros J, Blanes M, et al. Bacterial urinary tract infection after solid organ transplantation in the RESITRA cohort. *Transpl Infect Dis.* 2012;14:595–603.
 45. Starr ME, Saito H. Sepsis in old age: review of human and animal studies. *Aging Dis.* 2014;5:126.
 46. Le Page AK, Mackie FE, McTaggart SJ, et al. Cytomegalovirus & Epstein Barr Virus serostatus as a predictor of the long-term outcome of kidney transplantation. *Nephrology.* 2013;18:813–819.
 47. Andes DR, Safdar N, Baddley JW, et al. The epidemiology and outcomes of invasive Candida infections among organ transplant recipients in the United States: results of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET). *Transpl Infect Dis.* 2016;18:921–931.
 48. Kauffman CA, Freifeld AG, Andes DR, et al. Endemic fungal infections in solid organ and hematopoietic cell transplant recipients enrolled in the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET). *Transpl Infect Dis.* 2014;16:213–24.
 49. Jacobson PA, Schladt D, Oetting WS, et al. Lower Calcineurin Inhibitor Doses in Older Compared to Younger Kidney Transplant Recipients Yield Similar Troughs. *Am J Transplant.* 2012;12:3326–3336.
 50. Sotaniemi EA, Arranto AJ, Pelkonen O, et al. Age and cytochrome P450-linked drug metabolism in humans: an analysis of 226 subjects with equal histopathologic conditions. *Clin Pharmacol Ther.* 1997;61:331–339.
 51. Hilmer SN, Shenfield GM, Le Couteur DG. Clinical implications of changes in hepatic drug metabolism in older people. *Ther Clin Risk Manag.* 2005;1:151.
 52. Gabardi S, Tullius SG, Krenzien F. Understanding alterations in drug handling with aging: a focus on the pharmacokinetics of maintenance immunosuppressants in the elderly. *Curr Opin Organ Transplant.* 2015;20:424–30.
 53. Abboudi H, MacPhee IAM. Individualized immunosuppression in transplant patients: potential role of pharmacogenetics. *Pharmgenomics Pers Med.* 2012;5:63.
 54. Litynski GS, Mouret, Dubois, and Perissat: the laparoscopic breakthrough in Europe (1987-1988). *JSLS J Soc Laparoendosc Surg.* 1999;3:163.
 55. Benzing C, Krenzien F, Atanasov G, et al. Single incision laparoscopic liver resection (SILL) - a systematic review. *GMS Interdiscip Plast Reconstr Surg DGPW.* 2015;4:Doc17.
 56. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, et al. Liver Transplantation for the Treatment of Small Hepatocellular Carcinomas in Patients with Cirrhosis. *N Engl J Med.* 1996;334:693–700.
 57. Shehta A, Han H-S, Yoon Y-S, et al. Laparoscopic liver resection for hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients: 10-year single-center experience. *Surg Endosc.* 2016;30:638–648.
 58. Niehues SM, Unger JK, Malinowski M, et al. Liver volume measurement: reason of the difference between in vivo CT-volumetry and intraoperative ex vivo determination and how to cope it. *Eur J Med Res.* 2010;15:345.
 59. Stockmann M, Lock JF, Riecke B, et al. Prediction of postoperative outcome after hepatectomy with a new bedside test for maximal liver function capacity. *Ann Surg.* 2009;250:119–25.
 60. Kauffmann R, Fong Y. Post-hepatectomy liver failure. *Hepatobiliary Surg Nutr.* 2014;3:238.
 61. Agopian VG, Harlander-Locke MP, Ruiz RM, et al. Impact of Pretransplant Bridging

- Locoregional Therapy for Patients With Hepatocellular Carcinoma Within Milan Criteria Undergoing Liver Transplantation: Analysis of 3601 Patients from the US Multicenter HCC Transplant Consortium. *Ann Surg.* 2017;266:525–535.
62. Krenzien F, Schmelzle M, Struecker B, et al. Liver Transplantation and Liver Resection for Cirrhotic Patients with Hepatocellular Carcinoma: Comparison of Long-Term Survivals. *J Gastrointest Surg.* 2018;22:840–848.
 63. Krenzien F, Krezdorn N, Morgül M, et al. The elderly liver transplant recipients: anxiety, depression, fatigue and life satisfaction. *Z Gastroenterol.* 2017;55:557–563.
 64. Krenzien F, Wabitsch S, Haber P, et al. Validity of the Iwate criteria for patients with hepatocellular carcinoma undergoing minimally invasive liver resection. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2018;25:403–411.
 65. Krenzien F, Quante M, Heinbokel T, et al. Age-Dependent Metabolic and Immunosuppressive Effects of Tacrolimus. *Am J Transplant.* 2017;17:1242–1254.
 66. Bedi DS, Krenzien F, Quante M, et al. Defective CD8 Signaling Pathways Delay Rejection in Older Recipients. *Transplantation.* 2016;100:69–79.
 67. Oberhuber R, Heinbokel T, Cetina Bieffer HR, et al. CD11c⁺ Dendritic Cells Accelerate the Rejection of Older Cardiac Transplants via Interleukin-17A. *Circulation.* 2015;132:122–131.
 68. Blosser CD, Huverserian A, Bloom RD, et al. Age, exclusion criteria, and generalizability of randomized trials enrolling kidney transplant recipients. *Transplantation.* 2011;91:858.
 69. Lewis JH, Kilgore ML, Goldman DP, et al. Participation of patients 65 years of age or older in cancer clinical trials. *J Clin Oncol.* 2003;21:1383–1389.
 70. Gabardi S, Tullius SG, Krenzien F. Understanding alterations in drug handling with aging. *Curr Opin Organ Transplant.* 2015;20:424–430.
 71. Thorgeirsson SS, Grisham JW. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Nat Genet.* 2002;31:339.
 72. Altekruse SF, McGlynn KA, Reichman ME. Hepatocellular carcinoma incidence, mortality, and survival trends in the United States from 1975 to 2005. *J Clin Oncol.* 2009;27:1485.
 73. Tacke F, Kroy DC, Barreiros AP, et al. Liver transplantation in Germany. *Liver Transplant.* 2016;22:1136–1142.
 74. Jara M, Reese T, Malinowski M, et al. Reductions in post-hepatectomy liver failure and related mortality after implementation of the LiMAx algorithm in preoperative work-up: a single-centre analysis of 1170 hepatectomies of one or more segments. *HPB.* 2015;17:651–658.
 75. Proneth A, Zeman F, Schlitt HJ, et al. Is resection or transplantation the ideal treatment in patients with hepatocellular carcinoma in cirrhosis if both are possible? A systematic review and metaanalysis. *Ann Surg Oncol.* 2014;21:3096–3107.
 76. Kanazawa A, Tsukamoto T, Shimizu S, et al. Impact of laparoscopic liver resection for hepatocellular carcinoma with F4-liver cirrhosis. *Surg Endosc.* 2013;27:2592–2597.
 77. Krenzien F.; Strucker B.; Raschzok N.; Ollinger R.; Pascher A.; Bahra M.; Sauer I.; Schmelzle M.; Pratschke J.; Andreou A. Liver transplantation and liver resection for cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma: Comparison of long-term survivals. *Transpl Int.* 2017;30:28–46.
 78. Zheng Z, Liang W, Milgrom DP, et al. Liver transplantation versus liver resection in the treatment of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis of observational studies. *Transplantation.* 2014;97:227–234.
 79. Menahem B, Lubrano J, Duvoux C, et al. Liver transplantation versus liver resection for

- hepatocellular carcinoma in intention to treat: Attempt to perform an ideal meta-analysis. *Liver Transplant*.
80. Ciria R, Cherqui D, Geller DA, et al. Comparative short-term benefits of laparoscopic liver resection: 9000 cases and climbing. *Ann Surg*. 2016;263:761–777.
 81. Abbas N, Makker J, Abbas H, et al. Perioperative care of patients with liver cirrhosis: a review. *Heal Serv insights*. 2017;10:1178632917691270.
 82. Nguyen KT, Marsh JW, Tsung A, et al. Comparative benefits of laparoscopic vs open hepatic resection: a critical appraisal. *Arch Surg*. 2011;146:348–356.
 83. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology*. 2011;53:1020–1022.
 84. Balogh J, David Victor III EHA, Burroughs SG, et al. Hepatocellular carcinoma: a review. *J Hepatocell carcinoma*. 2016;3:41.
 85. Werkgartner G, Wagner D, Manhal S, et al. Long-term quality of life of liver transplant recipients beyond 60 years of age. *Age (Omaha)*. 2013;35:2485–2492.
 86. Pelgur H, Atak N, Kose K. Anxiety and depression levels of patients undergoing liver transplantation and their need for training. In: *Transplantation proceedings*. Elsevier; 2009:1743–1748.
 87. Vigano L, Laurent A, Tayar C, et al. The learning curve in laparoscopic liver resection: improved feasibility and reproducibility. *Ann Surg*. 2009;250:772–782.
 88. Wakabayashi G. What has changed after the Morioka consensus conference 2014 on laparoscopic liver resection? *Hepatobiliary Surg Nutr*. 2016;5:281–9.
 89. Ban D, Tanabe M, Ito H, et al. A novel difficulty scoring system for laparoscopic liver resection. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*. 2014;21:745–53.
 90. Hasegawa Y, Wakabayashi G, Nitta H, et al. A novel model for prediction of pure laparoscopic liver resection surgical difficulty. *Surg Endosc*. 2017;31:5356–5363.
 91. Cauchy F, Fuks D, Nomi T, et al. Risk factors and consequences of conversion in laparoscopic major liver resection. *Br J Surg*. 2015;102:785–795.
 92. Halls MC, Cherqui D, Taylor MA, et al. Are the current difficulty scores for laparoscopic liver surgery telling the whole story? An international survey and recommendations for the future. *HPB (Oxford)*. 2018;20:231–236.
 93. Klotz U. Pharmacokinetics and drug metabolism in the elderly. *Drug Metab Rev*. 2009;41:67–76.
 94. Krzyżowska K, Kolonko A, Giza P, et al. Which Kidney Transplant Recipients Can Benefit from the Initial Tacrolimus Dose Reduction? *Biomed Res Int*;2018.
 95. Lehner LJ, Staeck O, Halleck F, et al. Need for optimized immunosuppression in elderly kidney transplant recipients. *Transplant Rev*. 2015;29:237–239.
 96. Du W, Shen H, Galan A, et al. An age-specific CD8+ T cell pathway that impairs the effectiveness of strategies to prolong allograft survival. *J Immunol*. 2011;187:3631–3640.
 97. Uhrlaub JL, Smithey MJ, Nikolich-Zugich J. Cutting edge: the aging immune system reveals the biological impact of direct antigen presentation on CD8 T cell responses. *J Immunol*. 2017;199:403–407.
 98. Sivaganesh S, Harper SJ, Conlon TM, et al. Copresentation of intact and processed MHC alloantigen by recipient dendritic cells enables delivery of linked help to alloreactive CD8 T cells by indirect-pathway CD4 T cells. *J Immunol*. 2013;190:5829–5838.
 99. Dasari BVM, Schlegel A, Mergental H, et al. The use of old donors in liver transplantation. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2017;31:211–217.

100. Schmitt V, Rink L, Uciechowski P. The Th17/Treg balance is disturbed during aging. *Exp Gerontol.* 2013;48:1379–86.
101. Lee JS, Lee W-W, Kim SH, et al. Age-associated alteration in naive and memory Th17 cell response in humans. *Clin Immunol.* 2011;140:84–91.
102. Tesar BM, Du W, Shirali AC, et al. Aging augments IL-17 T-cell alloimmune responses. *Am J Transplant.* 2009;9:54–63.

6 Danksagung

7 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/Wissenschaftlerinnen 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

.....
Dr. med. Felix Krenzien