

AUFTRETEN VON DONORSPEZIFISCHEN ANTIKÖRPERN NACH
LEBERTRANSPLANTATION UND DEREN KLINISCHE RELEVANZ

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

Von Patrice Anna Gerda Ziehm

Geboren am 15.08.1990 in Fürth

Gutachter

- 1. Herr Professor Dr. Utz Settmacher, Jena**
- 2. Herr Professor Dr. Michael Heise, Berlin**
- 3. Herr Professor Dr. Daniel Seehofer, Leipzig**

Tag der öffentlichen Verteidigung: 03.08.2021

Inhaltsverzeichnis

1	Abkürzungsverzeichnis und Glossar	1
2	Zusammenfassung.....	3
3	Einleitung	5
3.1	Lebertransplantation – ein Überblick	5
3.2	Abstoßung solider Organe.....	5
3.3	Major-Histocompatibility-Komplex.....	7
3.4	Donorspezifische Antikörper	8
3.5	Die Sonderstellung des Lebertransplantats	10
4	Ziele der Arbeit.....	11
5	Methodik.....	12
5.1	Patientenauswahl	12
5.2	Methoden.....	13
5.2.1	Datenerhebung	13
5.2.2	HLA-Typisierung	13
5.3	Immunologische Testverfahren zur HLA-Antikörperbestimmung.....	13
5.3.1	Der Lymphozytotoxizitätstest	13
5.3.2	ELISA und LUMINEX-Test.....	14
5.4	HLA-Antikörper-Screening vor und nach Lebertransplantation.....	15
5.5	Statistische Analyse.....	15
6	Ergebnisse	16
6.1	Einteilung der Kohorten	16
6.2	Basisparameter.....	16
6.3	Klinik nach Lebertransplantation.....	19
7	Diskussion.....	28
7.1	Nierentransplantation.....	28
7.2	Einfluss der DSA nach Lebertransplantation	28
7.3	Erschwerte Vergleichbarkeit	29

7.4	Schwächen der Arbeit.....	30
7.5	Ergebnisse der Arbeit im Vergleich zur derzeitigen Literatur	31
7.5.1	Akute Antikörper-medierte-Abstoßung (aAMR)	31
7.5.2	Chronische Antikörper-medierte-Abstoßung (cAMR)	32
7.5.3	Akzelerierte Fibrose, Ischemic type biliary lesions (ITBL), Duktopenie	33
	und biliäre Stenose.....	33
7.5.4	Abszesse, CMV-Infektionen, Infektionen und Sepsis	35
7.5.5	Organversagen, Retransplantationen und Versterben	35
7.5.6	C1q-Bindung, IgG-Subtypen sowie C4d-Test	36
7.5.7	Behandlung der DSA	37
7.6	Zukünftiger Studienaufbau	37
8	Schlussfolgerungen.....	39
8.1	Aussagen der Arbeit	39
8.2	Trend der Studien	39
8.3	Ausblick	40
9	Literatur und Quellen.....	41
10	Anhang.....	47
10.1	Tabellenverzeichnis	47
10.2	Abbildungsverzeichnis	47
10.3	Danksagung.....	48
10.4	Ehrenwörtliche Erklärung.....	49

1 Abkürzungsverzeichnis und Glossar

≤ 6 M	Beginn der Komplikation innerhalb der ersten sechs Monate nach LTX
> 6 M	Beginn der Komplikation nach mindestens sechs Monaten nach LTX
AK	Patienten mit HLA-Antikörpern nach LTX
aAMR	Akute Antikörper-medierte-Abstoßung
AMR	Antikörper-medierte-Abstoßung
ALR	Akute Leberabstoßung
Andere Infektion	Neue nach LTX aufgetretene, behandlungspflichtige Infektion, die keiner Cholangitis, keinem Abszess und keiner CMV-Infektion entspricht.
Bas	Basiliximab
BS	Biliäre Stenose
C1q	Plasmaprotein; erster Komplementfaktor des klassischen Wegs zur Komplementaktivierung
cAMR	Chronische Antikörper-medierte-Abstoßung
Cho	Cholestase
Chi	Cholangitis
CMV	Cytomegalievirus
Crossmatch	Lymphozytotoxizitätstest; dient dem Nachweis und der Differenzierung von zytotoxischen Antikörpern
DSA	Donorspezifische Antikörper gegen HLA (A, B, C, DR, DQ) nach LTX
DSA HLAI	Donorspezifische Antikörper gegen HLA-Klasse-I (A, B, C) nach LTX
DSA HLAI	Donorspezifische Antikörper gegen HLA-Klasse-II (DR, DQ) nach LTX
ELISA	Enzym-linked Immunosorbent Assay
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
IgG	Immunglobulin G
ITBL	Ischemic type biliary lesions
LDLTX	Leberlebendspende
LiMax-Test	Maximum-Liver-Function-Capacity-Test
LTX	Lebertransplantation
LUMINEX-Technologie	Partikelbasiertes, flowzytometrisches Verfahren zum Nachweis (Mix) und zur Differenzierung von HLA-Klasse-I- und HLA-Klasse-II-Antikörpern (Single Antigen = SA)
MELD-Score	Model of End Stage Liver Disease Score
MFI	Mittlere Fluoreszenzintensität

MMF	Mycophenolat-Mofetil
MW	Mittelwert
NBG Ratio	Normalized Background Ratio; normalisiertes Hintergrundverhältnis zur Ermittlung der Stärke jeder Anti-HLA-Reaktion im LUMINEX-Test
nAK	Patienten ohne HLA-Antikörper nach LTX
nDSA	Patienten mit nicht donorspezifischen HLA-Antikörpern nach LTX
P	Prednisolon
Patienten	Generisches Maskulinum; Patientinnen, Patienten, divers
PCR-SSP	Polymerase-Ketten-Reaktion mit Sequenz-spezifischen Primern
PRA	Panelreaktivität; Maß für die Reaktion von Antikörpern innerhalb eines vorgegebenen Lymphozytenpanels
ReLTX	Patienten mit Leberretransplantation
SA	Single-Antigen-Test; LUMINEX-Test zur Differenzierung von HLA-Klasse-I- und HLA-Klasse-II-Antikörpern
Tac	Tacrolimus
TCMR	T-Zell-medierte-Abstoßung

2 Zusammenfassung

Die 1-Jahres-Überlebensrate nach Lebertransplantation liegt heute in westlichen Ländern bei etwa 85-90 %. Das 5-Jahres-Überleben ist bei 73 % verortet und das 10-Jahres-Überleben bei Kadaverspenden beträgt noch 64 % (Adam et al. 2012; American Society of Transplantation 2016; Olthoff et al. 2015).

Unter anderem beeinflussen immunologische Prozesse, insbesondere die chronische Abstoßung, die Langzeitüberlebensraten. Will man das Langzeitüberleben verbessern, muss hier therapeutisch angesetzt werden. Als immunologisch privilegiertes und stark regeneratives Organ kann das Lebertransplantat sich zu einem gewissen Grad vor dem Einfluss donorspezifischer Antikörper (DSA) schützen. Immun gegen DSA ist es jedoch nicht. In der Literatur der letzten Jahre wird den DSA der HLA-Klasse-II vermehrt ein schädigender Einfluss zugesprochen.

Diese Arbeit untersucht den Einfluss donorspezifischer Antikörper auf den klinischen Verlauf der Patienten nach Lebertransplantation mit dem Fokus auf der chronischen Antikörper-vermittelten-Transplantatschädigung. Hierzu wurden 118 Patienten über einen Zeitraum von 3 bis 7 Jahren nach Transplantation begleitet. Es erfolgte eine Unterteilung in Patienten mit DSA der HLA-Klasse-II (DSA HLAI), Patienten mit nicht donorspezifischen Antikörpern (nDSA) und Patienten ohne Antikörper (nAK).

Bei 29 Patienten waren DSA nach LTX nachweisbar. Hiervon bildeten 27 Patienten DSA der HLA-Klasse-II. 18 Patienten wiesen nDSA auf. Das Auftreten von Komplikationen, Retransplantationen und die Mortalität wurden verglichen und auf einen möglichen Zusammenhang mit DSA geprüft. Deskriptiv entwickelten Patienten mit DSA HLAI früher, aber nicht häufiger, biliäre Stenosen (im Mittel nach 4 Monaten) als nAK-Patienten (im Mittel nach 12 Monaten). Nach dem ersten halben Jahr wiesen DSA HLAI-Patienten mehr Cholangitiden auf (22 %) als Patienten ohne Antikörper (13 %) und nDSA-Patienten (11 %). Während des ersten halben Jahres zeigten nDSA-Patienten (28 %) hingegen die meisten Cholangitiden im Vergleich zu DSA HLAI- (15 %) und nAK-Patienten (18 %). Im Hinblick auf das Überleben nach Transplantation verstarben DSA HLAI-Patienten später und häufiger (19 %; MW = 60 Monate) als Patienten ohne Antikörper (7 %; MW = 29 Monate). Von den fünf verstorbenen Patienten, die DSA der HLA-Klasse-II gebildet hatten, entwickelten jedoch drei Karzinomkrankungen, die als ursächlich für das spätere Versterben anzunehmen sind. Eine Assoziation des gehäuften späteren Versterbens und DSA ist hier nicht anzunehmen.

Insgesamt können die Ergebnisse keinen statistisch gesicherten Einfluss der DSA HLAI auf die Langzeitprognose nach Lebertransplantation zeigen.

Dies ist jedoch am ehesten der geringen Kohortengröße der DSA-Patienten ($n = 29$) geschuldet und lässt daher nur einen groben Schluss über die Bedeutung der DSA zu.

Da DSA nur bei einer Minderheit der LTX-Patienten nachweisbar sind, liegen auch in aktuellen Studien die Kohorten der DSA-Patienten meist bei $n < 50$. In den vergangenen 10 Jahren wurden Studien publiziert, die einen Einfluss der DSA auf akute wie chronische Abstoßung, Transplantatfibrose, Duktopenie und biliäre Stenose in verschiedenen Patientengruppen mit DSA belegen. Ob das Patienten- und Organüberleben durch DSA-vermittelte Parenchymschädigungen, abseits von akuten Leberabstoßungen, eingeschränkt ist, wird derzeit noch diskutiert. Es mangelt an Studien, die Patienten und ihre DSA-Entwicklung in großen Kohorten mit multiplen Parametern über einen längeren Zeitraum untersuchen.

Aus dem explorativen Charakter der vorliegenden Arbeit kann nun ein Studiendesign entwickelt werden, das den Einfluss der DSA präziser zu greifen vermag.

Um in künftigen Studien den Einfluss der DSA zu untersuchen, empfiehlt es sich, multizentrisch LTX-Patienten zusammenzuführen und jährlich einen Antikörper-Status zu erheben. Eine Beurteilung der Qualität der Spenderleber könnte grob durch Einbezug der Ischämiezeit und des Donoralters möglich werden. Aufbauend auf dieser verbesserten Datenlage, sollten DSA weiter charakterisiert werden. Gerade DSA mit einer mittleren Fluoreszenzintensität (MFI) > 5000 , C1q-bindende DSA sowie die Subgruppen IgG3 und IgG1 gelten als besonders transplantatschädigend. Um weiter auf Biopsien verzichten zu können und trotzdem die Transplantatfunktion zu bewerten, sollte unbedingt der LiMAX-Test (Maximum-Liver-Function-Capacity-Test) hinzugezogen werden. Zusammen mit dauerhaft unklar erhöhten Leberparametern wird hier eine frühe Beurteilung der Transplantatschädigung möglich.

Ein oft vernachlässigter Parameter ist die Therapie-Adhärenz der Lebertransplantierten, welche über Lücken in der Immunsuppression Aufschluss gibt und die Zuordnung von de novo DSA noch Jahre post-transplant ermöglicht. Auch ein erneuter Alkoholkonsum ist eine nicht zu vernachlässigende Größe für eine rasche Fibrosierung des Transplantats. Derlei Informationen könnten in einem Fragebogen bei den Kontrolluntersuchungen erfasst werden.

3 Einleitung

3.1 Lebertransplantation – ein Überblick

Thomas Earl Starzl und Kollegen führten 1963 erstmalig eine Lebertransplantation (LTX) durch. Seither hat sich die Transplantationsmedizin enorm weiterentwickelt. Um das Organ- und Patientenüberleben zu verbessern, wurden chirurgische Techniken, Lagerung und Transport der Organe sowie Immunsuppressiva-Regime kontinuierlich ergänzt und verfeinert. Während in den 1970er-Jahren das 1-Jahres-Überleben in den USA bei Kadaverspenden noch 22 % betrug (Starzl et al. 1974), liegt es heute bei 85 - 90 % (American Society of Transplantation 2016; Adam et al. 2012).

3.2 Abstoßung solider Organe

Transplantierte Organe können T-Zell-mediert (TCMR) und Antikörper-mediert (AMR) abgestoßen werden. Die Begriffe „Zell-vermittelt“ und „humoral“ wurden hier in der Nomenklatur abgelöst. In den letzten Jahrzehnten wurde die T-Zell-medierte-Abstoßung besonders wegen ihrer guten histologischen Nachweisbarkeit als Hauptursache für Abstoßungsreaktionen verantwortlich gemacht (Murphy and Weaver 2017). Durch eine sensitivere Antikörpertestung und eine Weiterentwicklung der Gewebefärbung, gewannen nun auch Antikörper-vermittelte Schäden an Gewicht. Um deren negative Wirkung auf das Transplantat besser greifen zu können, lassen sich vier Stadien unterscheiden: Im Stadium 1 zirkulieren vorwiegend donorspezifische Antikörper im Blut. Man spricht hier von einer latenten AMR. Im Stadium 2 finden sich Ablagerungen von Komplement im Gewebe. Sind Gewebsschäden nachweisbar, liegt Stadium 3 vor. In diesen Stadien ist die AMR noch subklinisch. Erst mit der klinischen Organdysfunktion, dem Stadium 4, ist das Vollbild der AMR erfüllt (Morrell et al. 2009).

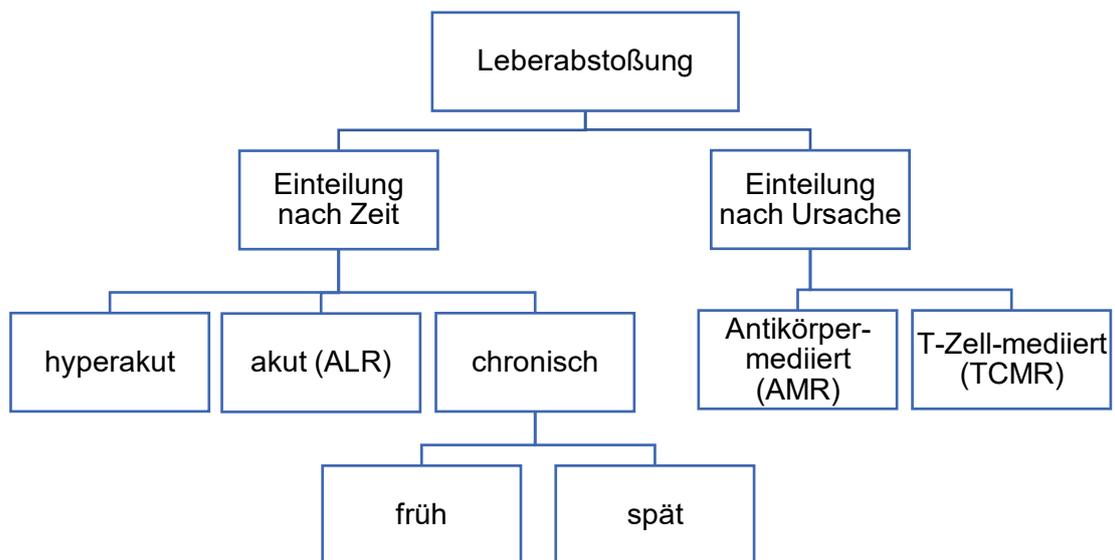


Abbildung 1: Überblick Formen der Leberabstoßung (eigene Darstellung)

Neben der Ursache der Schädigung, lässt sich die Leberabstoßung auch in ihrem zeitlichen Auftreten unterscheiden. Nach Transplantation kann das Organ hyperakut, akut oder chronisch abgestoßen werden (Abb.1). Die hyperakute Rejektion tritt meist innerhalb von Minuten nach Reperfusion des Organs auf. Sie wird durch vorbestehende Antikörper gegen das fremde Blutgruppensystem oder das Donororgan ausgelöst. Die Aktivierung von Komplementfaktoren führt über den Membranangriffskomplex zur Zellyse und mit dieser zur Aktivierung der Gerinnungskaskade. Durch die Vergabe von blutgruppenkompatiblen und Crossmatch-negativen Organen, kann diese Form der Abstoßung weitgehend vermieden werden (Murphy and Weaver 2017).

Die akute Antikörper-medierte-Abstoßung (aAMR) tritt meist nach 10 bis 13 Tagen ein, da es erst zu einer T-Zell-Aktivierung und Bildung von donorspezifischen Antikörpern (DSA) kommen muss. Die chronische Abstoßung, im Unterschied zu den ersten beiden Rejektionsformen, wird erst Jahre nach Lebertransplantation sichtbar. Je nach Menge des geschädigten Parenchyms, unterscheidet man in eine frühe und späte chronische Abstoßung. Histologisch zeichnet sie sich durch Rarefizierung der Gallengänge (Vanishing Bile Duct Syndrom), Vaskulopathie, Inflammation, Fibrose und nekrotische Areale aus. Finden sich zusätzlich zum gleichen Zeitpunkt zirkulierende DSA und sind andere Schädigungsursachen ausgeschlossen, kann die Diagnose „chronische Antikörper-medierte-Abstoßung“ (cAMR) gestellt werden. Sie ist irreversibel und führt schließlich zum Transplantatversagen (Murphy and Weaver 2017; Demetris et al. 2016).

3.3 Major-Histocompatibility-Komplex

Um Antikörper-vermittelte Abstoßungsreaktionen besser unterscheiden zu können, sind weitere diagnostische Schritte nötig. Transplantatschäden durch Isoagglutinine können durch die Beachtung der Blutgruppen-Kompatibilität vermieden werden. Hierzu ähnlich kann die Bildung von donorspezifischen Antikörpern durch eine möglichst hohe Übereinstimmung in den Genprodukten der Humanen Leukozyten Antigene (HLA)-Loci vermindert werden. Diese Gene, auch als Major-Histocompatibility-Komplexe (MHC) bekannt, finden sich auf allen kernhaltigen Zellen (Abb.2). Die HLA-I-Antigene oder MHC-I-Komplexe, präsentieren zelleigene Peptide unter anderem zytotoxischen CD8-T-Lymphozyten, um beispielsweise einen Virusbefall zu erkennen. Die HLA-II-Antigene oder MHC-II-Komplexe, werden hingegen zusätzlich auf immunkompetenten Zellen exprimiert und bieten durch Endozytose aufgenommene oder autophagierte Peptide den CD4-T-Lymphozyten zur Eigen-Fremd-Diskriminierung dar.

Neben den dargebotenen Peptiden kann auch der MHC-Komplex selbst als fremd erkannt werden. Diese Fremderkennung führt zu einer umfassenden Immunreaktion. Unter anderem kommt es zur Bildung von HLA-Antikörpern (AK) gegen die als fremd detektierten HLA-Antigene (AG). In deren Folge entstehen an der antigentragenden Stelle so genannte Antigen-Antikörper-Komplexe, die entweder zu einer Aktivierung der Komplementkaskade und damit zur Zellyse oder auch zu einer Immunzell-vermittelten Apoptose führen können. Ohne Gabe von Immunsuppressiva würden so solide Allotransplantate in den ersten zwei Wochen nach Transplantation funktionsunfähig (Murphy and Weaver 2017).

Bei Nierentransplantationen ist bereits eine größtmögliche Übereinstimmung von Spender und Empfänger in den HLA-Antigenen zur Verminderung der Immunreaktion essenziell. Bei anderen Organen bestehen hier noch viele Unklarheiten. Der derzeitige Organmangel zwingt jedoch zu einer Abwägung der Dringlichkeit der Transplantation gegenüber der HLA-Kompatibilität. Im Durchschnitt kommt allein in den USA alle zehn Minuten eine neue Patientin oder ein neuer Patient auf eine Organwarteliste. Etwa 20 Patienten versterben pro Tag in Ermangelung eines Spenders (Data | UNOS 2014). Auf der Warteliste von Eurotransplant (BeNeLux-Länder, Deutschland, Österreich, Ungarn, Slowenien und Kroatien) befanden

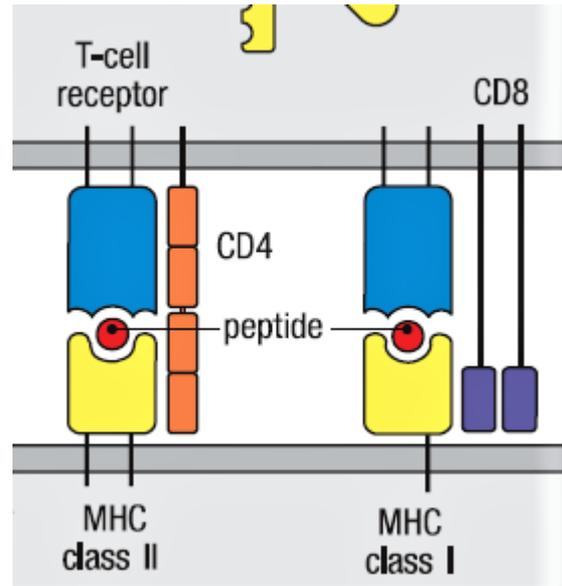


Abbildung 2: MHC-Komplexe
(Murphy and Weaver 2017)

sich allein im Jahr 2017 2098 Patienten. Hiervon erhielten im gleichen Jahr 823 ein Lebertransplantat, davon 61 eine Lebendspende. 308 Menschen verstarben auf der Warteliste (Deutsche Stiftung Organtransplantation 2017).

Die Vernachlässigung der HLA-Kompatibilität zu Gunsten des Patientenüberlebens hat zur Folge, dass nach Transplantation häufig donorspezifische Antikörper (DSA) gegen MHC-I- wie MHC-II-Komplexe (auch donorspezifische HLA-Klasse-I- (DSA HLAI) und HLA-Klasse-II-Antikörper (DSA HLAI) genannt) gebildet werden. Gerade DSA HLAI führen zu vermehrten Transplantatschäden (O'Leary and Demetris et al. 2014; Miyagawa-Hayashino et al. 2012). Nachfolgend werde ich die Gruppe der DSA weiter beleuchten.

3.4 Donorspezifische Antikörper

DSA können präformiert oder de novo auftreten. Präformierte DSA werden vor Transplantation durch immunisierende Ereignisse (Transfusionen, Infekte, Schwangerschaften oder vorausgegangene Transplantationen) akquiriert. Wird auf dem Spenderorgan das schon vorbekannte Antigen gebildet, richten sich die präformierten Antikörper gegen das Spenderorgan. Zur Detektion dieser Antikörper wird vor Transplantation eine umfassende Antikörperdiagnostik durchgeführt. Hierzu gehört der Crossmatch-Test (auch Lymphozytotoxizitätstest genannt) der präformierte donorspezifische zytotoxische Antikörper anzeigt.

De novo DSA werden hingegen im Rahmen der immunologischen Reaktion des Empfängers in den ersten Wochen bis Jahren nach Transplantation gebildet. Neben dem Zeitpunkt des Erstauftretens ist es wichtig, zwischen transienten und persistierenden DSA zu unterscheiden. Erstere können Ausdruck unzureichender Immunsuppression sein und sind oft nur einmalig im Antikörper-Screening nachweisbar. Letztere finden sich über Jahre in den Antikörper-Screenings. Ihnen wird häufig eine stärkere Transplantatschädigung zugesprochen. Daher empfehlen sich regelmäßige Kontrollen des Antikörper-Status. Nach der anfänglichen (primären) Immunantwort, bei der pentamerische IgM-Antikörper von Plasmazellen produziert werden, kommt es zu einer verstärkten (sekundären) Immunantwort. Diese beinhaltet eine Modifizierung der Antikörper in der Plasmazelle durch einen Switch zu monomeren IgG-Antikörpern (Abb.3). Die Subklassen IgG3 und IgG1 sind als starke Komplementaktivatoren bekannt (Murphy and Weaver 2017).

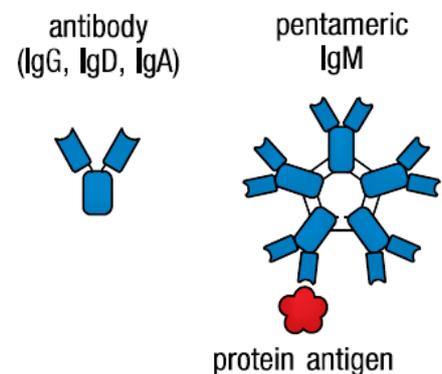


Abbildung 3: Struktur der Antikörper
(Murphy and Weaver 2017)

Einige DSA fixieren zudem den Komplementfaktor C1q und leiten damit verstärkt eine Zellyse ein (Abb.4).

Neben dem Screening auf C1q-fixierende Antikörper kann auch die Komplementkomponente C4d in Gewebsschnitten angefärbt werden. So wird eine verstärkte Komplementbindung am Endothel nachgewiesen. Diese Unterteilungen sind jedoch erst in weiterführenden Untersuchungen relevant. In der Routine-Antikörperdiagnostik werden durch den Lymphozytotoxizitätstest und LUMINEX-Test HLA-Klasse-I- und HLA-Klasse-II-Antikörper erfasst und deren Donorspezifität ermittelt. Bei einem regelmäßigen Antikörperscreening kann der Zeitpunkt des Erstauftretens donorspezifischer Antikörper eingegrenzt und deren Persistenz bestimmt werden.

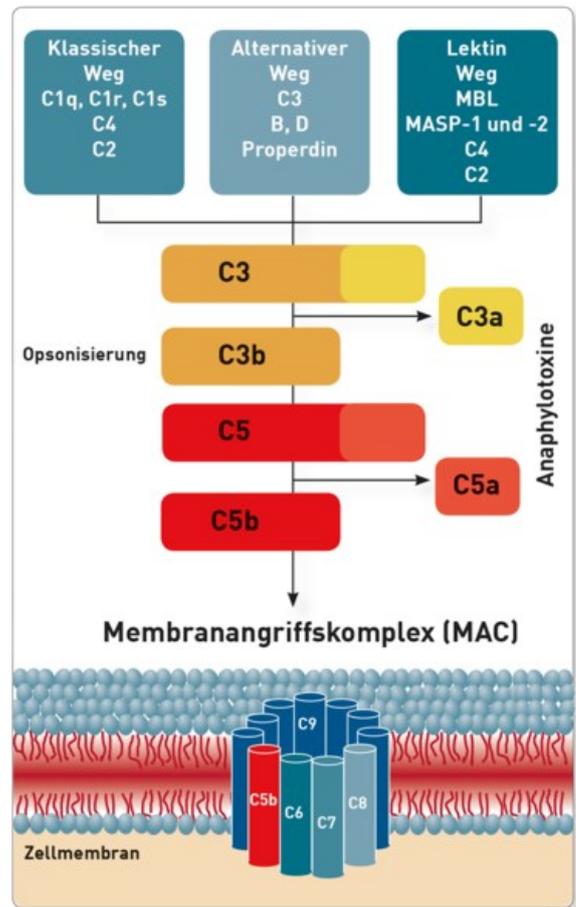


Abbildung 4 Die Komplementkaskade
(Institut für medizinische Diagnostik Berlin-Potsdam, 2020)

3.5 Die Sonderstellung des Lebertransplantats

Im Gegensatz zu Lungen-, Herz- oder Nierentransplantaten sind die Auswirkungen der DSA auf das Lebertransplantat derzeit schwierig zu ermitteln. Da die Leber immunologisch privilegiert ist, wird sie zu einem gewissen Grad vor dem Einfluss der DSA geschützt.

Kommt es beispielsweise zu einer Leberparenchymschädigung, werden lösliche HLA-I- und HLA-II-Antigene sezerniert. Diese bilden Komplexe mit zirkulierenden Antikörpern und werden anschließend durch Phagozytose der Kupffer-Zellen eliminiert.

Zudem werden HLA der Klasse II in Abwesenheit einer Inflammation, Infektion oder Ischämie nur geringfügig auf dem Leberendothel exprimiert, so dass eine Bindung entsprechender DSA kaum möglich ist.

Im Vergleich zur Niere besitzt die Leber weiter eine 100-fach größere Kapillaroberfläche und Hepatozyten haben starke regenerative Fähigkeiten. Selbst wenn durch eine Vielzahl von zirkulierenden DSA Parenchymschäden entstünden, bliebe die Funktionsfähigkeit des Organs vorerst unbeeinträchtigt (O'Leary and Demetris et al. 2014).

Aufgrund dieser Kompetenzen wurde die HLA-Kompatibilität bei Lebertransplantationen sowie das Auftreten von DSA lange Zeit als wenig relevant eingeordnet. In den letzten Jahren entwickelten sich mit der LUMINEX-Technologie die Möglichkeiten der Antikörper-Diagnostik jedoch stark weiter. Zudem wuchs der Wunsch nach einem komplikationsarmen Langzeitüberleben bei geringer Immunsuppression (Demetris et al. 2015).

Die 1-Jahres-Überlebensrate lebertransplantierte Patienten lag 2012 in westlichen Staaten bei 85 - 90 % und das 5-Jahres-Überleben bei 73 % (Adam et al. 2012; American Society of Transplantation 2016). Das 10-Jahres-Überleben betrug 2014 bei Lebendspenden 70 % und bei Kadaverspenden 64 % (Olthoff et al. 2015).

Auf der Suche nach Möglichkeiten das Outcome weiter zu verbessern, wird das Auftreten von DSA als chronisch schädigender Faktor vermehrt in Studien untersucht. Während einige Studien keinen signifikanten Einfluss feststellten, sehen andere DSA als Wegbereiter der chronischen Abstoßung durch Duktopenien, biliären Stenosen sowie akzelerierte Fibrosen.

4 Ziele der Arbeit

In dieser Arbeit soll der mögliche Einfluss von DSA, insbesondere der HLA-Klasse-II, auf die Klinik der Patienten nach Lebertransplantation im Universitätsklinikum Jena überprüft werden.

Sind innerhalb der ersten drei bis sieben Jahre zwischen den beiden Gruppen Unterschiede erkennbar? Insbesondere:

Treten bei Patienten mit DSA, insbesondere der HLA-Klasse-II, nach Transplantation

1. Akute Leberabstoßungen
2. Biliäre Stenosen oder Ischemic type biliary lesions
3. Cholestase, Cholangitiden oder Abszesse
4. CMV-Infektionen, Infektionen oder Sepsis
5. Retransplantationen oder das Versterben

häufiger oder früher auf?

5 Methodik

5.1 Patientenauswahl

In diese Arbeit wurden alle Patienten eingeschlossen, die im Zeitraum vom 01.01.2010 bis 31.12.2014 am Universitätsklinikum Jena lebertransplantiert wurden und nicht den nachfolgenden Ausschlusskriterien unterlagen.

Ausschluss von Patienten

- mit multiplen Organtransplantationen
- mit Retransplantationen
- unter 16 Jahren zum Zeitpunkt der LTX
- mit ABO-inkompatiblen LTX
- mit einer primär sklerosierenden Cholangitis oder einer autoimmunen Hepatitis
- ohne Follow-Up oder mit einem Follow-Up unter 84 Tagen
- mit einem Spenderorgan ohne HLA-Typisierungsdaten

Eine fehlende oder unvollständige HLA-Typisierung des Empfängers oder eine Teiltypisierung des Spenders waren keine Ausschlusskriterien. Auch zwischen Lebendspende und Kadaverspende wurde nicht unterschieden. Endpunkte der Beobachtung waren das Versterben, eine Retransplantation oder das Ende des Beobachtungszeitraums am 31.12.2017. So konnten alle Patienten minimal 3 Jahre, maximal 7 Jahre begleitet werden.

Um Patienten mit und ohne DSA in ihrem klinischen Verlauf post-transplant vergleichen zu können, erfolgte eine Unterteilung in 3 Gruppen: Patienten ohne HLA-Antikörper (nAK) wurden von Patienten mit nicht donorspezifischen HLA-Antikörpern (nDSA) sowie Patienten mit DSA unterschieden. Da in dieser Arbeit besonders der Einfluss von HLA-Klasse-II-Antikörpern untersucht werden sollte, wurde die DSA-Gruppe nochmals in Patienten mit HLA-Klasse-I-Antikörpern (DSA HLAI, n = 4) und HLA-Klasse-II-Antikörpern (DSA HLAI, n = 27) unterteilt. Patienten mit sowohl HLA-Klasse-I als auch HLA-Klasse-II DSA wurden in der DSA HLAI-positiven Gruppe aufgeführt.

5.2 Methoden

5.2.1 Datenerhebung

Sämtliche klinischen Patientendaten wurden dem Dokumentationssystem SAP entnommen. Dabei wurden Arztbriefe, Befunde und Laborparameter ausgewertet. Die HLA-Typisierungsdaten der Empfänger sowie deren Antikörperbefunde wurden dem Laborinformationssystem SwissLab entnommen. Die HLA-Typisierungsdaten von Kadaverspenden sind im ENIS hinterlegt und wurden via Eurotransplant ausgelesen. Der Antikörperstatus post-transplant wurde ihm Rahmen der regelmäßigen Nachsorgekontrollen in der LTX-Sprechstunde erhoben.

5.2.2 HLA-Typisierung

Im Rahmen der Vorbereitung der Patienten zur Lebertransplantation erfolgte eine molekularbiologische Low-Resolution-Typisierung der Genorte HLA-A, -B, -C, -DR und -DQ. Die Typisierung wurde mittels PCR-SSP-Methode unter Verwendung kommerzieller Testkits der Firma Olerup durchgeführt (Oberle 2015b). Die PCR-SSP-Analyse basiert auf einer Amplifikationsreaktion, die nur dann eintritt, wenn das 3'-Ende des Primers komplementär zur Zielsequenz ist. Einzelne Allele oder Allelgruppen können damit über die Bildung spezifischer PCR-Produkte differenziert werden. Gemäß den Sequenzinformationen werden Primerkombinationen eingesetzt, die nur bei Anwesenheit eines Allels oder einer Allelgruppe zur Bildung des spezifischen PCR-Produktes führen (Oberle 2015b).

5.3 Immunologische Testverfahren zur HLA-Antikörperbestimmung

5.3.1 Der Lymphozytotoxizitätstest

Der HLA-Antikörpernachweis mittels Lymphozytotoxizitätstest (Crossmatch) erfolgte unter Verwendung des kommerziellen Zellpanels Sera Screen FCT 60 der Firma BAG Healthcare. Zu den in einer Mikrotestkammer vorgelegten HLA-typisierten Lymphozyten wird das zu untersuchende Serum gegeben. Befinden sich in dem Serum korrespondierende HLA-Antikörper, reagieren diese mit den auf der Zelle vorliegenden HLA-Antigenen und bilden einen Antigen-Antikörper-Komplex aus. Nach anschließender Komplementzugabe erfolgt eine Lyse der antikörperbindenden Zielzellen. Durch Zugabe von Fluoroquench (Fa. BMT), einem Farbstoffgemisch aus Acridinorange und Ethidiumbromid, kann die Vitalität der Zellen bewertet werden. Die Zellkerne lysierter Zellen erscheinen im Fluoreszenzmikroskop rot, die vitaler Zellen grün. Mittels eines Scorewerts wird der prozentuale Anteil letaler Lymphozyten an der Gesamtlymphozytenzahl ermittelt (Schröder 2018).

5.3.2 ELISA und LUMINEX-Test

Vor der Einführung des LUMINEX-Tests im Jahr 2010 wurden Antikörper mittels ELISA bestimmt. 4 der 118 untersuchten Patienten wiesen noch ein ELISA-Screening vor LTX auf. Bei dem Enzym-gekoppeltem Immunadsorptionstest wird auf eine Festphase mit gereinigten HLA-Antigenen das Patientenserum gegeben. Vorhandene Antikörper bilden mit den Antigenen Komplexe aus. Diese können nun mit Hilfe eines enzymmarkierten Anti-Humanen-IgG-Antikörper-Konjugates und anschließender Reaktion mit einer chromogenen Substanz photometrisch sichtbar gemacht werden (Oberle 2015c, 2015a).

Die weitaus sensitivere LUMINEX-Technologie ist ein Bead-basiertes flowzytometrisches Verfahren zur Detektion von Antikörpern in Gemischen. Man unterscheidet hier unter anderem den LUMINEX-Mix-Test (Mix) von einem Single-Antigen-Test (SA) (Schröder 2017).

Der LUMINEX-Mix-Test dient als Screeningverfahren. Er ermöglicht den differenzierten Nachweis von HLA-Klasse-I- und HLA-Klasse-II-Antikörpern in einem Testansatz. Hierfür werden farbcodierte Beads verwendet, die mit Antigenen, isoliert aus lymphoiden Zelllinien, beschichtet sind.

Bei einem positiven Testergebnis für HLA-Klasse-I- und/oder HLA-Klasse-II-Antikörper, erfolgte eine Differenzierung der nachgewiesenen Antikörper im Single-Antigen-Test. Bei diesem Test werden mit einzelnen, rekombinant hergestellten HLA-Antigenen beschichtete Beads verwendet. Die zu untersuchenden Seren werden mit den beschichteten Beads inkubiert, so dass vorhandene HLA-Antikörper des Patientenserums mit diesen Komplexe bilden können. Anschließend erfolgt eine Markierung der Komplexe mit R-Phycoerthrin-(PE)-konjugiertem Ziege-Anti-Human-IgG. Mittels zweier Laser werden sowohl die Eigenfluoreszenz jedes Beads als auch die PE-Emission der gebundenen Antikörper ausgelesen. Neben den Untersuchungsseren wird jedem Testlauf ein Negativkontrollserum zugegeben, um den Hintergrundwert jedes Beads zu bestimmen.

Nach Transfer der Messdaten von der LUMINEX-Software in die Software des Kit-Herstellers (Fusion) wird eine Analyse der Daten vorgenommen. Dabei werden die für ein zu untersuchendes Serum ermittelten Rohdaten des Mix-Tests um den Bead-spezifischen Hintergrundwert korrigiert. Bei der so ermittelten Normalized-Background-Ratio liegt der Cut-off für ein positives Ergebnis im LUMINEX-Mix-Test bei 3,0. Der Cut-off für die Festlegung einer Antikörperspezifität im SA1- bzw. SA2-Ansatz liegt hingegen bei einer mittleren Fluoreszenzintensität (MFI) von 1500 (Schröder 2017; Luminex corporation 2012).

5.4 HLA-Antikörper-Screening vor und nach Lebertransplantation

Alle Patienten erhielten, wenn möglich, vor Transplantation eine HLA-Antikörperbestimmung im Lymphozytotoxizitätstest und einen Festphasentest (ELISA- oder LUMINEX-Test). Bei positivem Screening-Ergebnis erfolgte eine Differenzierung der Antikörper. Nach Lebertransplantation wurde bei klinischem Verdacht auf eine Abstoßungsreaktion ein Antikörper-Screening durchgeführt.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde bei allen in die Studie eingeschlossenen Patienten eine Überprüfung des Antikörper-Status mittels des LUMINEX-Tests vorgenommen. Alle Tests wurden standardmäßig im Labor für Transplantationsimmunologie des Universitätsklinikums Jena durchgeführt.

5.5 Statistische Analyse

Die Auswertung der gesammelten Daten erfolgte explorativ und wurde mit Microsoft Excel sowie dem Statistikprogramm GraphPad Prism 7.03 durchgeführt. Häufigkeiten wurden deskriptiv durch Prozentangaben (%), Mittelwerte (MW), Mediane sowie Minima und Maxima dargestellt. Unterschiede zwischen den Kohorten wurden bei $n < 6$ mit dem exakten Fisher-Test berechnet. Der Chi-Quadrat-Test nach Pearson wurde bei Kohorten $n > 5$ verwendet. Die Wahrscheinlichkeiten für biliäre Stenosen, CMV-Infektionen und die Überlebenszeitanalyse wurden mit der Kaplan-Meier-Methode bestimmt. Hier wurde der Logrank-Test zum Vergleich der Kohorten angewendet. Als Endpunkte der Analyse galten das Auftreten des Ereignisses oder der 31.12.2017 (das Ende des Beobachtungszeitraums). Bei allen statistischen Verfahren wurden Ergebnisse mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0.05$, in zweiseitiger Testung, als signifikant gewertet.

6 Ergebnisse

6.1 Einteilung der Kohorten

Während der Datenerhebung zeigte sich, dass bei einigen Patienten Daten fehlten oder unvollständig vorlagen. So wurde bei 13 Empfängern keine HLA-Typisierung durchgeführt. Weiter fehlten bei 22 Donoren die HLA-C-Typisierung und bei 3 Donoren die HLA-DQ-Typisierungsdaten. Bei den Empfängern der nicht typisierten DQ-Loci-Organe traten keine HLA-Antikörper auf, so dass ein Einschluss dieser drei Spender-Empfänger-Paare unter Vorbehalt erfolgte. Insgesamt konnten von 275 transplantierten Patienten 118 in die Arbeit eingeschlossen werden.

6.2 Basisparameter

Es zeigte sich, dass 68 % der Untersuchten männlich und im Mittel 55 Jahre alt waren. In 74 % der Fälle führte eine Leberzirrhose mit oder ohne hepatozellulärem Karzinom (HCC) zur Lebertransplantation. Die Patienten warteten im Durchschnitt 309 Tage nach ihrer Listung auf ein Organ und kamen mit einem MELD-Score von im Mittel 26 in die Transplantation. Die initiale Immunsuppression bestand überwiegend aus Basiliximab, Tacrolimus, Mycophenolat-Mofetil sowie Prednisolon (Tab.1).

Tabelle 1

Patientencharakteristika vor Lebertransplantation

	alle Patienten	Prozent oder (Streubreite)	Pat. ohne Antikörper nAK	Prozent oder (Streubreite)	Pat. mit unspez. AK nDSA	Prozent oder (Streubreite)	Pat. mit DSA	Prozent oder (Streubreite)	Pat. mit DSA HLA II	Prozent oder (Streubreite)
Anzahl (n)	118		71		18		29		27	
Alter in Jahren (MW)	55	(26-71)	55	(26-71)	54	(38-71)	55	(29-71)	56	(29-71)
Geschlecht										
Männlich	80	68%	48	68%	12	67%	20	69%	19	70%
Weiblich	38	32%	23	32%	6	33%	9	31%	8	30%
LDLTX	23	19%	14	20%	1	6%	8	28%	8	30%
MELD (MW)	26	(6-40)	27	(6-40)	22	(8-40)	26	(6-40)	27	(6-40)
exMELD (MW)	29	(22-37)	29	(24-37)	29	(24-34)	29	(22-36)	29	(22-36)
Dauer auf der Warteliste in Tagen (MW)	309	(0-2220)	305	(0-2220)	370	(3-1373)	281	(2-1230)	250	(2-1230)
Ursache des Leberversagens										
Leberzirrhose	48	41%	32	45%	5	28%	11	38%	9	33%
Leberzirrhose und HCC	39	33%	21	30%	9	50%	9	31%	9	33%
Hepatozelluläres Karzinom/HCC	1	1%	0	0%	0	0%	1	3%	1	4%
andere Tumorerkrankung	6	5%	4	6%	1	6%	1	3%	1	4%
Autoimmunerkrankung	2	2%	1	1%	0	0%	1	3%	1	4%
Genetische Erkrankung	14	12%	9	13%	3	17%	2	7%	2	7%
Hämochromatose	1	1%	0	0%	0	0%	1	3%	1	4%
Andere	7	6%	4	6%	0	0%	3	10%	3	11%
CMV IgG	104	88%	64	90%	16	89%	24	83%	22	81%
Initial immunosuppression										
Bas, Tac, MMF, P	72	61%	39	55%	13	72%	20	69%	18	67%
Bas, Tac, MMF	40	34%	29	41%	3	17%	8	28%	8	30%
Andere	6	5%	3	4%	2	11%	1	3%	1	4%

nAK = keine HLA-Antikörper nach LTX; **nDSA** = Patienten mit nicht donorspezifischen HLA-Antikörpern nach LTX; **DSA** = Donorspezifische Antikörper gegen HLA (A, B, C, DR, DQ) nach LTX; **DSA HLAII** = Donorspezifische Antikörper gegen HLA-Klasse-II (DR, DQ) nach LTX; **LTX** = Lebertransplantation; **LDLTX** = Leberlebendspende; **MW** = Mittelwert; **MELD** = Model for End-stage Liver Disease Score; **HCC** = Hepatozelluläres Karzinom; **CMV** = Cytomegalievirus; **IgG** = Immunglobulin G; **Bas** = Basiliximab; **Tac** = Tacrolimus; **MMF** = Mycophenolat-Mofetil; **P** = Prednisolon; **Pat.** = Patient

Tabelle 2

Antikörper-Screening			Vor Transplantation		Nach Transplantation	
Patienten mit Screening (n)	108 (von 118)		118			
Patienten mit Antikörpern	51	47%	47	40%		
HLA I	46	43%	27	23%		
multispezifisch (> 3 AK)	25	23%	11	9%		
präformierte DSA I	11	10%	2	2%		
de novo DSA I			2	2%		
HLA II	21	19%	35	30%		
multispezifisch (> 3 AK)	9	8%	19	16%		
präformierte DSA II	8	7%	2	2%		
de novo DSA II			25	21%		
Antikörper gegen HLA Klasse I und II						
HLA A	31	29%	11	9%		
HLA B	35	32%	15	13%		
HLA Cw	15	14%	7	6%		
HLA DR	17	16%	18	15%		
HLA DQ	12	11%	29	25%		
Patienten mit DSA	17	16%	29	25%		
2 DSA	3	3%	5	4%		
3 DSA	2	2%	2	2%		

AK = HLA-Antikörper nach LTX; DSA = Donorspezifische Antikörper gegen HLA (A, B, C, DR, DQ) nach LTX

Im Antikörper-Screening vor LTX zeigte sich, dass 47 % (n = 51) der Patienten Antikörper bildeten, meistens (n = 46) gegen HLA-A, -B und -C. Nach Transplantation wiesen 40 % (n = 47) der Patienten im Screening Antikörper auf. Hier waren die meisten (n = 35) Antikörper gegen HLA-DR und -DQ gerichtet. Insbesondere DQ-Antikörper bildeten sich nach LTX stark aus. Multispezifische Antikörper traten vor Transplantation in der HLA-I-Gruppe häufiger, nach Transplant vermehrt in der HLA-II-Gruppe auf. Mehr als einen donorspezifischen Antikörper bildeten nur 7 der 29 DSA-Patienten aus. Nach LTX waren 4 der 19 präformierten DSA weiterhin nachweisbar. DSA der HLA-Klasse-I fanden sich nach LTX nur bei 4 Patienten. Von diesen exprimierten n = 2 gleichzeitig DSA der HLA-Klasse-II. In der Auswertung wurde auf die gesonderte Untersuchung der Untergruppen „Patienten mit präformierten DSA“, „Patienten mit DSA HLA I“ sowie „Patienten mit multispezifischen AK“ wegen zu geringen Gruppenstärken verzichtet (Tab.2).

Der Antikörperstatus nach Transplantation wurde bei allen Patienten mindestens einmal ermittelt. Die Erhebung folgte keinem festen Schema (Abb.5).

Abstand der Follow-Ups zur Lebertransplantation (LTX)

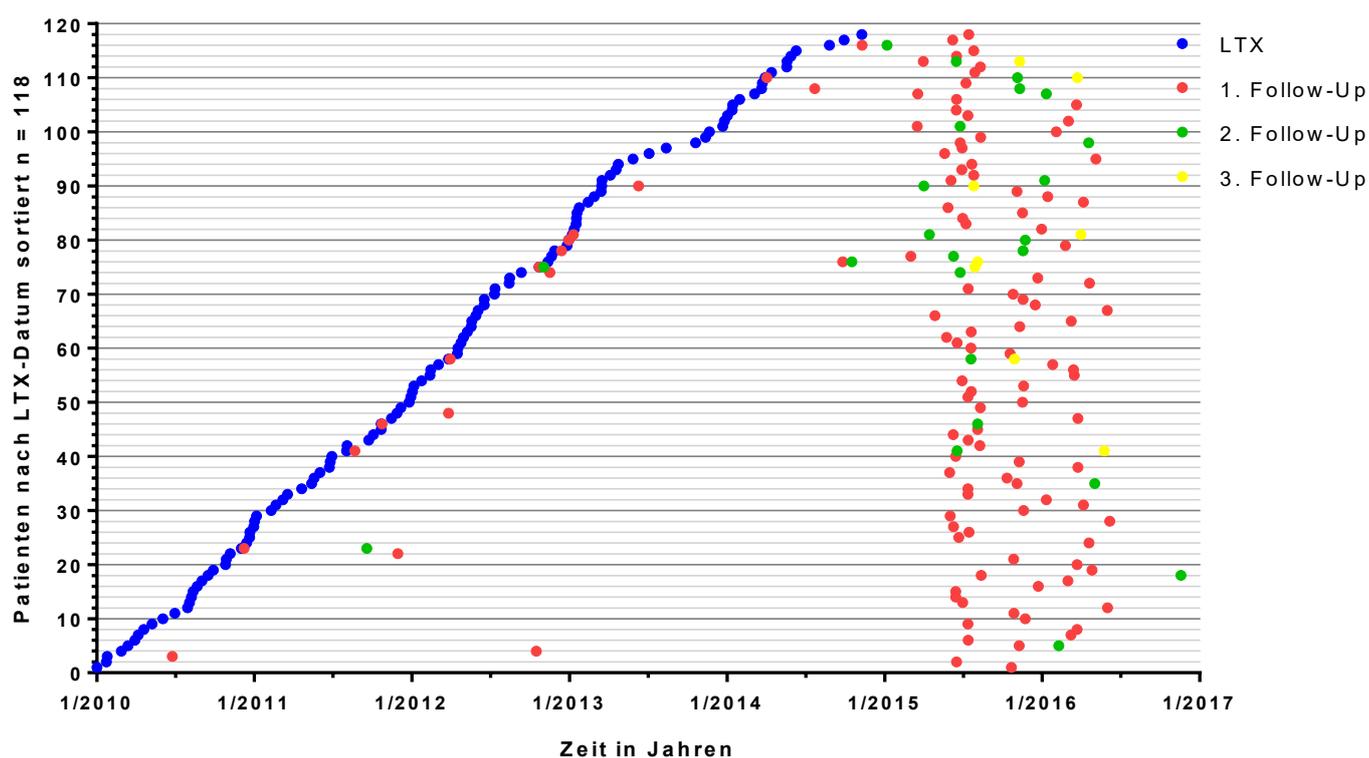


Abbildung 5: Antikörper-Follow-Ups nach Lebertransplantation

6.3 Klinik nach Lebertransplantation

Post-transplant wurden verschiedene klinische, nicht invasive Parameter zur Beschreibung des Verlaufs und der Komplikationen erhoben (Tab.4). Viele Komplikationen wurden in ihrem Auftreten in Monaten nach Transplantation erfasst. Einige Komplikationen wurden, da eine exakte Zuteilung nicht immer möglich war, in die Kategorien „innerhalb der ersten sechs Monate“ (≤ 6 M) und „nach mindestens sechs Monaten unterteilt“ (> 6 M). Patienten, die über einen Zeitraum von sechs Monaten hinaus eine Komplikation aufwiesen, wurden der Kategorie ≤ 6 M zugewiesen.

Es zeigte sich, dass die 118 Patienten nach Transplantation im Durchschnitt 41 Tage im Krankenhaus verbrachten und entweder keine oder nur geringe Komplikationen (dargestellt durch die Clavien-Dindo Klassifikation) auftraten. Alle als akute Leberreaktionen im Arztbrief verzeichneten Ereignisse, traten in den ersten 5 Monaten nach LTX auf und waren mit Steroiden behandelbar. Ischemic type biliary lesions (ITBL) wurden nur bei 4 Patienten beobachtet. Arterielle Komplikationen (Stenosen, Verschlüsse, Leckagen) sowie biliäre Leckagen traten im ersten Monat nach Transplant auf. Stenosen oder Verschlüsse im venösen System sowie biliäre Stenosen wurden im Durchschnitt erst nach 6 Monaten beobachtet.

Bei 28 % (n = 33) der Patienten kam es zu einer CMV-Infektion, hiervon 30 in Form einer Reinfektion sowie 3 Neuinfektionen. 20 % (n = 24) der Patienten wiesen eine Cholestase, 33 % (n = 39) eine Cholangitis und 40 % (n = 47) eine biliäre Stenose auf. Abszesse (n = 10) und neu aufgetretener Diabetes mellitus (n = 14) waren weniger häufig.

Neue behandlungspflichtige Infektionen (Andere Infektion), die keiner Cholangitis, keiner CMV-Infektion und keinem Abszess entsprachen, zeigten 61 % (n = 72) der Patienten. Die Mehrheit (n = 44) innerhalb von 6 Monaten (Tab. 4). Als „Andere Infektion“ wurden nur Infekte aufgenommen, die einer Therapie bedurften und neu aufgetreten waren.

13 % (n = 15) der Patienten erlitten eine Sepsis. Es verstarben 10 % (n = 12) der Patienten während des Beobachtungszeitraums. 6 Patienten verstarben an einem Multiorganversagen oder Sepsis und 1 Patient mit vorbestehendem Alkoholabusus wurde rückfällig. Bei 4 Patienten trat ein Tumorrezidiv oder Metastasen auf und 1 Patient entwickelte im Verlauf ein Bronchialkarzinom.

Von den 12 verstorbenen Patienten wiesen 5 DSA HLAI auf (Tab. 3).

Tabelle 3

Verstorbene Patienten	gesamt	HLAI
Anzahl (n)	12	5
Rezidiv der Grunderkrankung:		
Erneuter Alkoholabusus	1	1
HCC Rezidiv/Metastasen	4	2
Komplikationen/Neuerkrankung		
Multiorganversagen/Sepsis	6	1
Bronchialkarzinom	1	1

Insgesamt wurden Tumorrezidive oder Metastasen bei 8 % (n = 10) der Patienten und de novo Karzinomerkrankungen bei 6 % (n = 7) nachgewiesen. Zu einer Retransplantation kam es auf Grund von Transplantatversagen 4-malig (Tab.4).

Chirurgische Komplikationen, wie biliäre Leckagen oder arterielle und venöse Komplikationen, wurden nur in die deskriptive Analyse eingebunden.

Tabelle 4

Klinik nach Lebertransplantation 1/2

	alle Patienten	Prozent oder (Streuung)	Pat. ohne AK nAK	Prozent oder (Streuung)	Pat. mit unspez. AK nDSA	Prozent oder (Streuung)	Pat. mit DSA DSA	Prozent oder (Streuung)	Pat. mit DSA HLA II DSA HLAII	Prozent oder (Streuung)
Anzahl (n)	118		71		18		29		27	
Dauer des Krankenhausaufenthalts in Tagen (MW)	41	(2-128)	43	(16-125)	32	(15-128)	41	(2-104)	43	(2-104)
Clavien Dindo Klassifikation/CD										
CD 0	25	21%	17	24%	5	28%	3	10%	3	11%
CD I	7	6%	3	4%	1	6%	3	10%	2	7%
CD II	17	14%	8	11%	5	28%	4	14%	3	11%
CD IIIa	26	22%	18	25%	2	11%	6	21%	6	22%
CD IIIb	36	31%	20	28%	4	22%	12	41%	12	44%
CD IVa	6	5%	5	7%	0	0%	1	3%	1	4%
CD IVb	1	1%	0	0%	1	6%	0	0%	0	0%
CD V	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
Ischämische Biliäre Läsionen/ITBL	4	3%	3	4%	0	0%	1	3%	1	4%
Akute Leberreaktion/ALR	7	6%	4	6%	0	0%	3	10%	3	11%
ALR Monate (MW)	1	(0-5)	1	(0-5)			0	(0)	0	(0)
Steroid sensitive ALR	7	6%	4	6%			3	10%	3	11%
De novo Diabetes mellitus post LTX	14	12%	7	10%	3	17%	4	14%	3	11%
Arterielle Komplikationen	12	10%	7	10%	2	11%	3	10%	3	11%
Arterielle Komplikationen Monate (MW)	1	(0-10)	1	(0-4)	5	(0-10)	1	(0-2)	1	(0-2)
Venöse Komplikationen	9	8%	6	8%	2	11%	1	3%	1	4%
Venöse Komplikationen Monate (MW)	9	(0-39)	7	(0-21)	21	(2-39)	0	(0)	0	(0)
Biliäre Leckage oder Stenose	64	54%	38	54%	10	56%	16	55%	16	59%
Biliäre Leckage	39	33%	23	32%	4	22%	12	41%	12	44%
Biliäre Leckage Monate (MW)	1	(0-5)	1	(0-5)	1	(0-3)	1	(0-2)	1	(0-2)
Biliäre Stenose	47	40%	26	37%	9	50%	12	41%	12	44%
Biliäre Stenose Monate (MW)	8	(0-74)	12	(0-74)	5	(1-11)	4	(0-7)	4	(0-7)
Cholestase	24	20%	13	18%	4	22%	7	24%	7	26%
Cholestase ≤ 6 Monate	13	11%	7	10%	2	11%	4	14%	4	15%
Cholestase > 6 Monate	11	9%	6	8%	2	11%	3	10%	3	11%
Cholangitis	39	33%	22	31%	7	39%	10	34%	10	37%
Cholangitis ≤ 6 Monate	22	19%	13	18%	5	28%	4	14%	4	15%
Cholangitis > 6 Monate	17	14%	9	13%	2	11%	6	21%	6	22%

Klinik nach Lebertransplantation 2/2

	alle Patienten	Prozent oder (Streubreite)	Pat. ohne nAK	Prozent oder (Streubreite)	Pat. mit unspez. nDSA	Prozent oder (Streubreite)	Pat. mit DSA nDSA	Prozent oder (Streubreite)	Pat. mit DSA HLAII	Prozent oder (Streubreite)
Anzahl (n)	118		71		18		29		27	
Abszess	10	8%	4	6%	3	17%	3	10%	3	11%
Abszess Monate (MW)	7	(0-31)	4	(2-7)	14	(0-31)	4	(0-6)	4	(0-6)
CMV Infektion	33	28%	17	24%	7	39%	9	31%	9	33%
CMV Infektion Monate (MW)	4	(0-16)	3	(0-14)	5	(0-16)	3	(0-7)	3	(0-7)
Andere Infektion, nicht biliär oder CMV bedingt	72	61%	43	61%	12	67%	17	59%	17	63%
Andere Infektion ≤ 6 Monate	44	37%	25	35%	6	33%	13	45%	13	48%
Andere Infektion > 6 Monate	28	24%	18	25%	6	33%	4	14%	4	15%
Sepsis	15	13%	8	11%	3	17%	4	14%	4	15%
Sepsis ≤ 6 Monate	4	3%	1	1%	2	11%	1	3%	1	4%
Sepsis > 6 Monate	11	9%	7	10%	1	6%	3	10%	3	11%
De novo Karzinom	7	6%	5	7%	0	0%	2	7%	2	7%
De novo Karzinom Monate (MW)	61	(25-80)	61	(25-80)			61	(35-63)	61	(35-63)
Lokales Rezidiv oder Metastasen	10	8%	5	7%	2	11%	3	10%	3	11%
Lok. Rezidiv od. Metastasen Monate (MW)	32	(7-74)	32	(7-38)	32	(14-74)	32	(26-50)	32	(26-50)
Tod	12	10%	5	7%	2	11%	5	17%	5	19%
Tod Monate (MW)	41	(11-89)	29	(13-39)	20	(11-28)	60	(36-89)	60	(36-89)
Tod durch Rezidiv der Grunderk.	5	4%	2	3%	0	0%	3	10%	3	11%
Tod durch Komplikationen	7	6%	3	4%	2	11%	2	7%	2	7%
Retransplantation	4	3%	2	3%	2	11%	0	0%	0	0%
ReLTX Monate (MW)	11	(5-25)	17	(9-25)	5	(5)				

nAK = keine HLA-Antikörper nach LTX; nDSA = HLA-Antikörper nach LTX, die nicht spezifisch gegen den Donor gerichtet sind; DSA = Donorspezifische Antikörper gegen HLA (A, B, C, DR, DQ) nach LTX; DSA HLAII = Donorspezifische Antikörper gegen HLA-Klasse-II (DR, DQ) nach LTX; LTX = Lebertransplantation; MW = Mittelwert; CMV = Cytomegalievirus; Grunderkr.=Grunderkrankung; Pat. = Patient

Tabelle 5

Klinik nach Lebertransplantation, statistische Auswertung

	Pat. ohne AK nAK	Pat. mit unspez. AK nDSA	Pat. mit DSA HLA II DSA HLAI	Statistischer Test	p-Wert
Anzahl (n)	71	18	27		
Ischämische Biliäre Läsionen/ITBL	3		1	exakter Fisher-Test	>0,9999
Akute Leberreaktion/ALR	4		3	exakter Fisher-Test	0,3902
Biliäre Stenose	26		12	Chi-Quadrat-Test	0,4775
Biliäre Stenose Monate (MW)	12	5	4	Log-rank (Mantel-Cox) Test	0,4884
Cholestase	13		7	Chi-Quadrat-Test	0,4033
Cholestase ≤ 6 Monate	7		4	exakter Fisher-Test	0,4890
Cholestase > 6 Monate	6		3	exakter Fisher-Test	0,7034
Cholangitis	22		10	Chi-Quadrat-Test	0,5682
Cholangitis ≤ 6 Monate	13		4	exakter Fisher-Test	0,7739
Cholangitis > 6 Monate	9		6	Chi-Quadrat-Test	0,2409
Abszess	4		3	exakter Fisher-Test	0,3902
CMV Infektion	17		9	Chi-Quadrat-Test	0,3469
CMV Infektion Monate (MW)	3	5	3	Log-rank (Mantel-Cox) Test	0,3845
Andere Infektion, nicht biliär oder CMV bedingt	43		17	Chi-Quadrat-Test	0,8276
Andere Infektion ≤ 6 Monate	25		13	Chi-Quadrat-Test	0,2403
Andere Infektion > 6 Monate	18		4	exakter Fisher-Test	0,4163
Sepsis	8		4	exakter Fisher-Test	0,7318
Tod	5		5	exakter Fisher-Test	0,1326
Tod Monate (MW)	29	15	60	Log-rank (Mantel-Cox) Test	0,2185
Retransplantation	2		0	exakter Fisher-Test	>0,9999
Tod oder ReLTX	7		5	exakter Fisher-Test	0,3025
Tod oder ReLTX Monate (MW)	26	13	60	Log-rank (Mantel-Cox) Test	0,2698

nAK = keine HLA-Antikörper nach LTX; nDSA = Antikörper, aber nicht donorspezifisch nach LTX; DSA = Donorspezifische Antikörper gegen HLA (A, B, C, DR, DQ) nach LTX; DSA HLAI = Donorspezifische Antikörper gegen HLA-Klasse-II (DR, DQ) nach LTX; LTX = Lebertransplantation; MW = Mittelwert; CMV = Cytomegalievirus; Pat. = Patient

Parameter, die zur Beschreibung des Langzeitverlaufs dienen, wurden in den Kohorten auf mögliche Signifikanzen getestet (Tab.5). Patienten ohne Antikörper wurden Patienten mit HLA-Klasse-II-Antikörpern gegenübergestellt und im Hinblick auf das Auftreten von Komplikationen verglichen. Es wurde nicht nur das Auftreten an sich, sondern auch die zeitliche Nähe zur Transplantation berücksichtigt. Biliäre Stenosen, CMV-Infektionen und das Patientenüberleben wurden zusätzlich in eine ereignisfreie Überlebenszeitanalyse eingebunden. Auch wenn sich deskriptiv Unterschiede zeigten, erreichten sie rechnerisch keine Signifikanz (Tab.5).

Es folgt daher eine rein deskriptive Analyse der Daten mit graphischer Darstellung. Die Kohorten wurden analog zu Tab.5 gebildet: Patienten ohne HLA-Antikörper (nAK) wurden Patienten mit nicht donorspezifischen HLA-Antikörpern (nDSA) und Patienten mit donorspezifischen HLA-Klasse-II-Antikörpern (DSA HLAI) gegenübergestellt.

Deutlich wurde, dass bei Patienten mit DSA HLAI schneller biliäre Stenosen auftraten. Patienten ohne Antikörper wiesen Stenosierungen des Gallengangs erst nach 12 Monaten (0-74 Monate), mit nDSA nach 5 Monaten (1-11 Monate) und mit DSA HLAI bereits nach 4 Monaten (0-7 Monate) auf (Abb.6, Abb.7). In der Häufigkeit der biliären Stenosierung wurden keine Unterschiede deutlich: 37 % der nAK, 50 % der nDSA und 44 % der DSA HLAI-Patienten entwickelten eine biliäre Stenose (Abb.8, Tab.5).

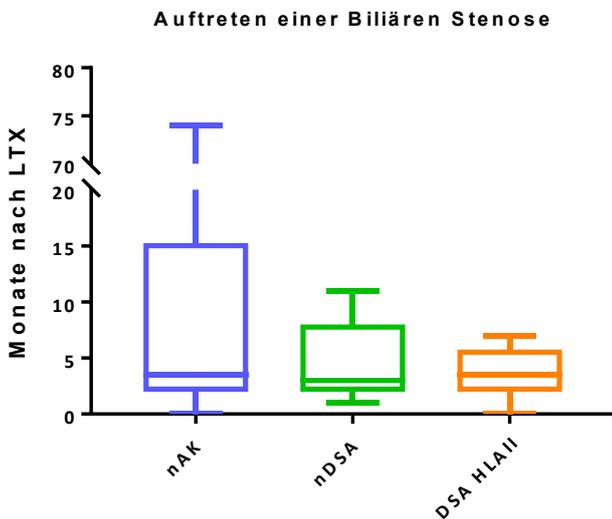


Abbildung 6: Boxplot Biliäre Stenose

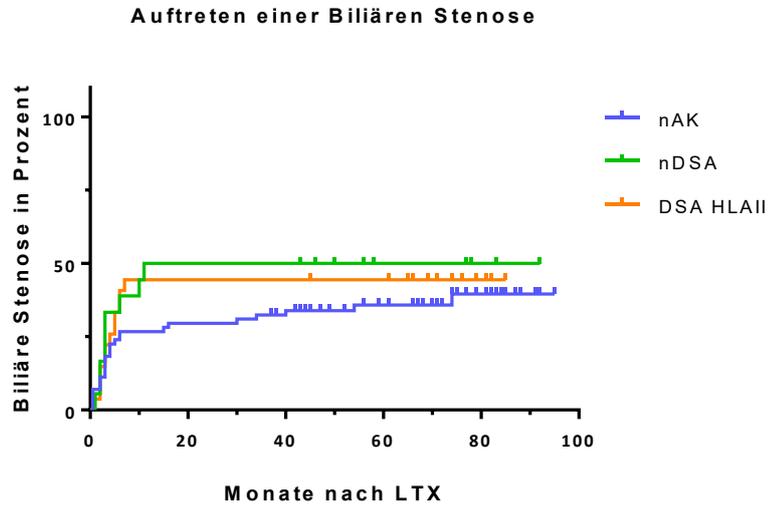


Abbildung 7: Kaplan-Meier Kurve Biliäre Stenose

Auftreten einer Biliären Stenose, Cholestase oder Cholangitis

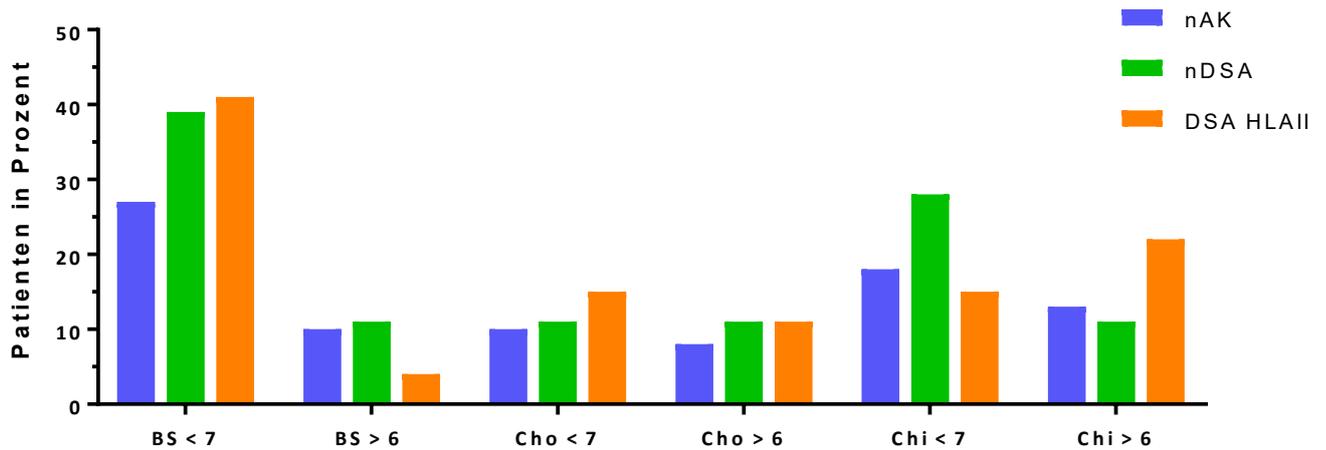


Abbildung 8: Barplot Biliäre Stenose (BS), Cholestase (Cho) und Cholangitis (Chi) während der ersten 6 Monate (< 7) und nach 6 Monaten (> 6)

Während bei dem Auftreten der Cholestasen zwischen den Gruppen kaum prozentuale Unterschiede sichtbar wurden, zeigten Patienten der DSA HLAI-Gruppe nach sechs Monaten häufiger Cholangitiden als die nAK-Gruppe (22 % versus 13 %). Innerhalb des ersten Jahres wiesen Patienten mit nDSA mit 28 % die meisten Cholangitiden auf (Abb.8). Insgesamt traten Cholangitiden jedoch ähnlich häufig auf: nAK 31 % versus nDSA 39 % versus DSA HLAI 37 %.

CMV-Infektionen traten ähnlich schnell und häufig auf. Sie waren im Mittel nach 4 Monaten bei 28 % der Patienten zu beobachten. Die nDSA-Kohorte erkrankte mit 39 % hier am häufigsten (Abb.9, Abb.10, Abb.11).

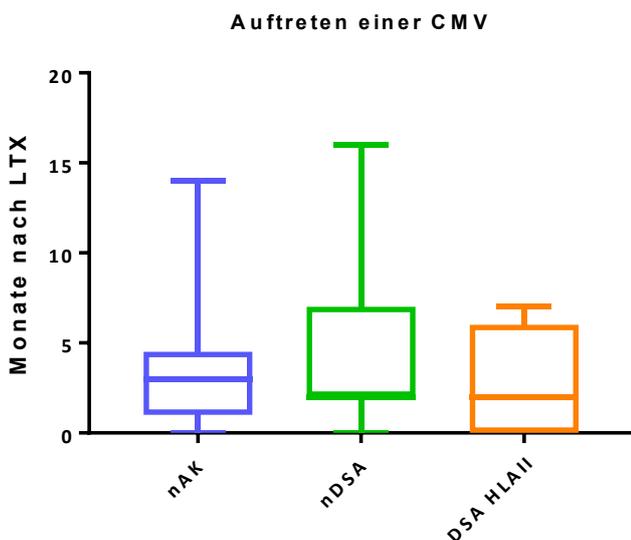


Abbildung 9: Boxplot CMV Re- und Neuinfektion

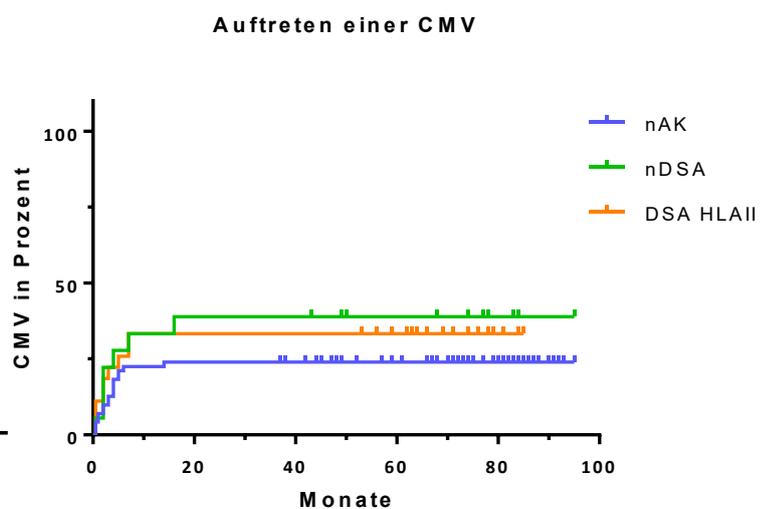


Abbildung 10: Kaplan-Meier Kurve CMV

Auch das Auftreten von anderweitigen Infektionen war in den Gruppen ähnlich verteilt. Abszesse waren bei 10 Patienten und eine Sepsis bei 15 Patienten zu beobachten (Abb.11, Tab.4).

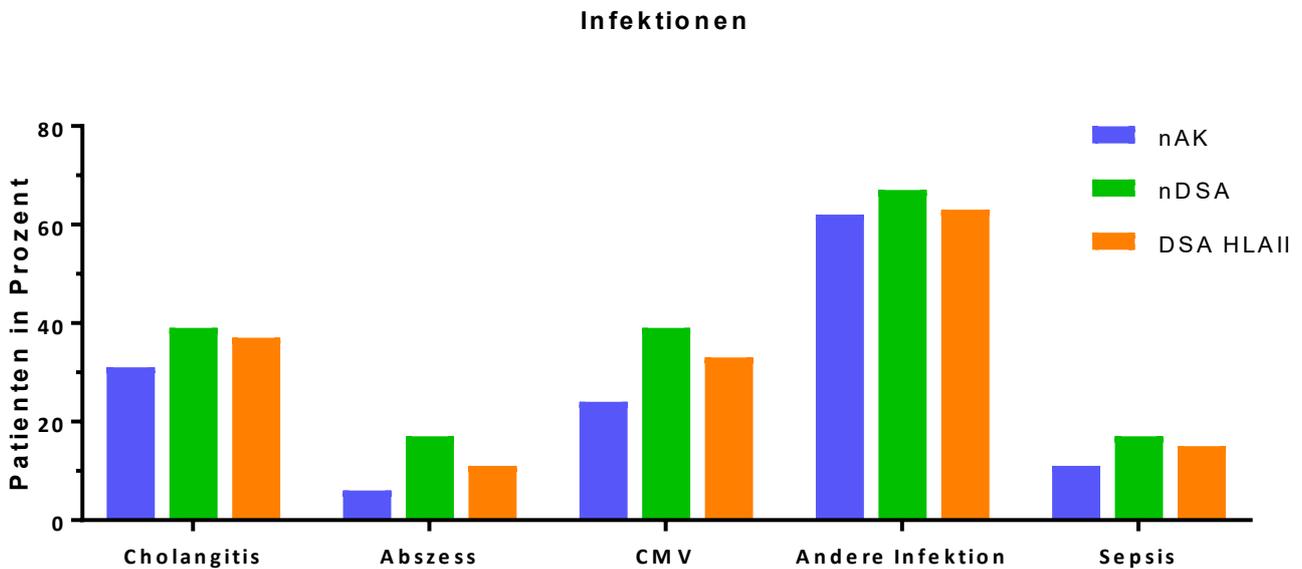


Abbildung 11: Barplot Infektionen nach LTX

In Abb.12 werden die wichtigsten klinischen Verlaufsparemeter gegenübergestellt. 40 % aller Patienten hatten eine biliäre Stenose, wohingegen nur 6 % der Patienten von einer akuten Leberabstoßung, 3 % von ITBL, 8 % von Rezidiven oder Metastasen und 3 % von einer Retransplantation betroffen waren.

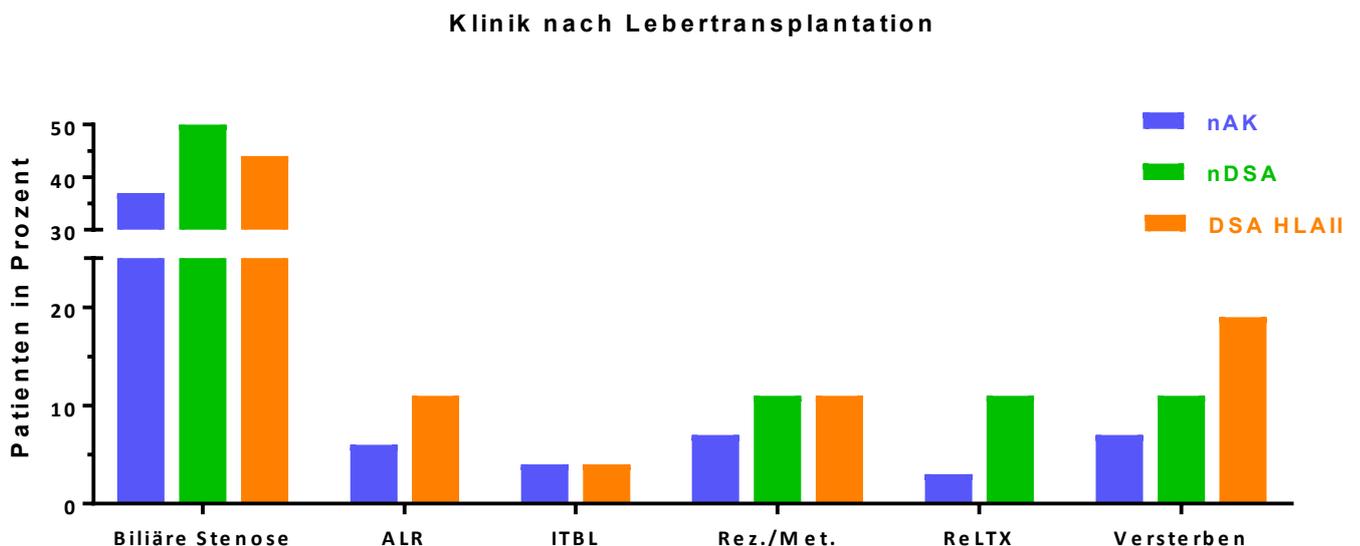


Abbildung 12: Barplot Auftreten von Biliärer Stenose, Akuter Leberrejektion (ALR), Ischemic type biliary lesions (ITBL), Rezidiv und Metastasen, Retransplantation (ReLTX) und Versterben der Patienten

19 % (n = 5) der DSA HLAII-Gruppe, 11 % (n = 2) der nDSA-Kohorte, aber nur 7 % (n = 5) der nAK-Kohorte verstarben. Weiter zeigte sich in einer gemeinsamen Analyse der Patienten mit Retransplantationen und der verstorbenen Patienten, dass Patienten mit DSA HLAII später verstarben: Patienten ohne Antikörper verstarben im Mittel nach 29 Monaten, Patienten mit DSA HLAII nach 60 Monaten. Jedoch verstarben 3 der 5 Patienten mit DSA an einer Karzinomerkrankung. Bei Patienten ohne Antikörper kam es im Durchschnitt nach 17 Monaten zu einer Retransplantation, bei Patienten mit nDSA bereits nach 5 Monaten (Abb.13, Abb.14, Tab.4).

In der Überlebenszeitanalyse berechnete sich für Patienten mit DSA HLAII ein medianes Überleben von 89 Monaten. Eine Analyse der beiden anderen Gruppen war statistisch nicht möglich (Abb.14)

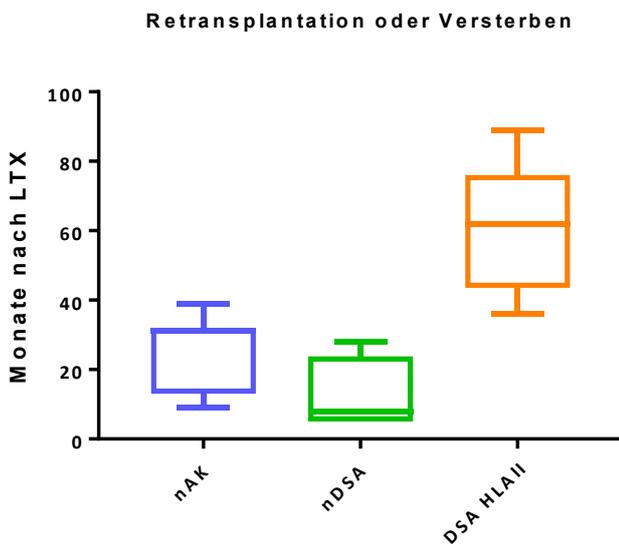


Abbildung 13: Boxplot Retransplantation oder Versterben

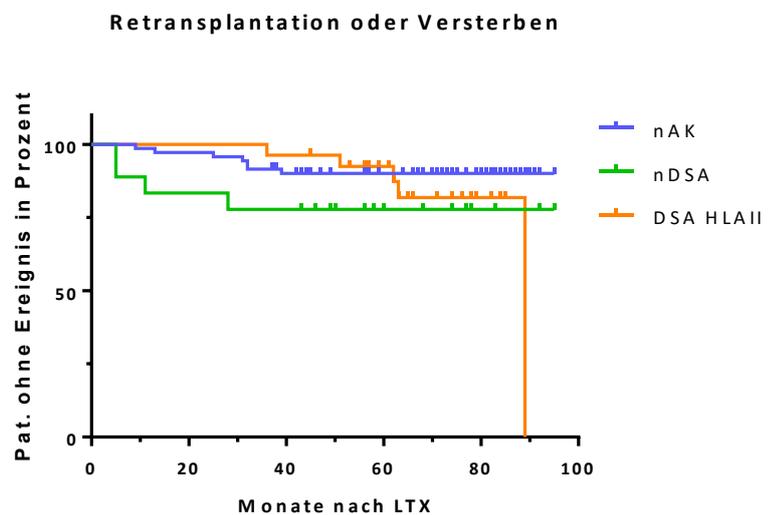


Abbildung 14: Kaplan-Meier-Kurve Retransplantation oder Versterben

7 Diskussion

7.1 Nierentransplantation

Der schädigende Einfluss der DSA konnte bei soliden Organtransplantationen (Abu-Elmagd et al. 2012), insbesondere bei Nierentransplantationen, bereits belegt werden (Terasaki et al. 2007; Cardarelli et al. 2005). Eine Zusammenschau verschiedener Studien zeigte, dass präformierte DSA das Risiko einer AMR bei Nierentransplantation fast verdoppelten. Zudem erhöhten sie das Risiko für ein Transplantatversagen um 76 % (Mohan et al. 2012). Aber auch nach Transplantation neu gebildete (de novo) DSA waren stark mit einem Transplantatversagen assoziiert (Mao et al. 2007). Die Bestimmung der HLA-Histokompatibilität ist mittlerweile ein fester Bestandteil des Allokationsverfahrens bei Nierentransplantationen, um die Bildung von DSA zu vermeiden. Die über Eurotransplant vergebenen Organe werden mit den HLA-A-, HLA-B- und HLA-DR-Loci der potenziellen Empfänger gematcht (Foundation 2018). Auch bei Nierenlebendspenden wird eine möglichst hohe Histokompatibilität mit dem Empfänger angestrebt. Einbezogen werden hier neben möglichst vielen Antigengemeinsamkeiten, auch akzeptable Mismatches. Um eine möglichst hohe AB0- und Histokompatibilität zu gewährleisten, kann sogar das „Swapping“ (d.h. „Cross Over“), ein Tausch von Lebendspenderorganen unter den Empfängern, erwogen werden (Abramowicz et al. 2018).

7.2 Einfluss der DSA nach Lebertransplantation

Eindeutige Beweise für die Relevanz donorspezifischer Antikörper hinsichtlich des Ausgangs einer Lebertransplantation liegen bisher nicht vor. Zweifelsohne ist das Organ weit weniger empfindlich für die schädigende Wirkung der DSA. Das Leberparenchym wird durch verschiedene immunologische Mechanismen, die immense Kapillaroberfläche sowie durch eine gute Regenerationsfähigkeit geschützt (Kim et al. 2016). Bei Multiorgantransplantationen erwies sich die Leber sogar als protektiver Faktor (Abu-Elmagd et al. 2012). Einzelne Studien der letzten 10 Jahre legen jedoch einen Zusammenhang zwischen DSA, vermehrten Komplikationen und erhöhter Mortalität nahe (O'Leary and Demetris et al. 2014; Del Bello et al. 2014; Cuadrado et al. 2015; Kaneku et al. 2013). Andere Studien halten den Einfluss der DSA für eher gering (Vandevoorde et al. 2018; Trotter 2016).

7.3 Erschwerte Vergleichbarkeit

Die Individualität der Patienten und ihrer Verläufe sowie die Komplexität der Transplantation, erschweren eine Ursache-Wirkung-Zuordnung erheblich. Weltweit wird seit den 1990er-Jahren intensiver an den Zusammenhängen von DSA und Schädigungen des Lebertransplantats geforscht (Ogura et al. 1994; Takaya et al. 1991; American Society of Transplantation 2016). Jedoch unterscheiden sich der Studienaufbau und die untersuchten Populationen oft deutlich, so dass es schwerfällt, allgemeine Schlussfolgerungen zu ziehen. Beispielsweise zeigen pädiatrische Patienten und reine Leberlebendspende-Patienten ein besseres Outcome, als adulte Empfänger einer Kadaverspende (Olthoff et al. 2015; American Society of Transplantation 2016).

Patienten mit Retransplantationen, multiplen Transplantationen und immunologischen Grunderkrankungen neigen zudem zu einer verstärkten Antikörperbildung (American Society of Transplantation 2016; Aberg et al. 2011). Diese potenziellen Störgrößen wurden in die Ausschlusskriterien dieser Arbeit einbezogen und nicht untersucht.

Als weitere Risikofaktoren für die Ausbildung von DSA werden ein junges Alter, eine niedrige Immunsuppression, Noncompliance, Cyclosporin statt Tacrolimus und ein niedriger MELD-Score angenommen (Demetris et al. 2015; Trotter 2016; Del Bello et al. 2016; Del Bello et al. 2015).

Auch ein hoher oder niedriger MFI-Cut-off verändert die DSA-Kohorte. Liegt der MFI-Cut-off nur bei > 500 , werden auch Patienten mit vergleichsweise wenigen zirkulierenden Antikörpern eingeschlossen. Liegt der Cut-off bei > 5000 , beschränkt sich die DSA-Kohorte auf Patienten mit starker Immunreaktion. Als Mittelmaß wurde der MFI-Cut-off im Universitätsklinikum Jena bei > 1500 angesetzt. Grundlegend ist an dieser Stelle anzuführen, dass die MFI als qualitative Größe konzipiert ist und ihre quantitative Aussagekraft stark beschränkt. So schwankt die Höhe der MFI in Abhängigkeit des verwendeten Kits, unter den Anwendenden sowie abhängig von der Umgebungstemperatur. Eine theoretische MFI von 500 könnte in einem anderen Ansatz als 750 ausgelesen werden. In Ermangelung stabilerer aber gleich sensitiver Messtechniken wird die MFI dennoch für quantitative Aussagen herangezogen. Für eine grobe Einschätzung ist dies möglich, bei feineren Unterscheidungen ist jedoch Vorsicht geboten.

Neben der Diagnostik variiert auch der Beobachtungszeitraum stark. In den wenigsten Studien werden Patienten länger als 5 Jahre begleitet (Miyagawa-Hayashino et al. 2012; Del Bello et al. 2014; Vandevoorde et al. 2018). Allerdings entwickeln sich de novo DSA noch Jahre nach Transplantation. In einer Studie zeigte sich, dass nach dem 1. Jahr 12,2 %, nach

dem 5. Jahr 13,4 % und nach dem 10. Jahr 19,5 % der Patienten DSA aufwiesen (Vandevorde et al. 2018).

Aus statistischer Sicht lassen erst Kohorten jenseits der 100 repräsentative Schlüsse über die Gesamtpopulation zu. Kohorten kleiner als 50 Patienten schwanken stark und können in die Irre führen (Rowe 2012). Da die meisten Studien, wie auch diese, von einzelnen Zentren veröffentlicht wurden, sind die Gruppen entsprechend bei $n < 50$ verortet.

7.4 Schwächen der Arbeit

In dieser Arbeit wurde nur eine Auswahl der Patienten nach LTX untersucht. Ausgeschlossen wurden Patienten, die innerhalb der ersten 84 Tage verstarben, retransplantiert wurden oder anschließend kein Antikörper-Follow-Up mehr erhielten. Der Einfluss präformierter oder früh nach Transplantation gebildeter de novo DSA wurde damit nicht untersucht.

Der Fokus lag auf dem chronischen Einfluss der DSA. Die untersuchten Patienten weisen so einen positiveren Verlauf nach LTX auf, als die Patientengesamtheit.

Da viele Patienten nur 1 Antikörper-Follow-Up erhielten, konnten transiente von persistierenden DSA nicht abgegrenzt werden. Zudem wurden die Patienten 3 bis 7 Jahre lang begleitet. Für die Beurteilung des chronischen Verlaufs ist eine Untergrenze von 3 Jahren jedoch eher früh. Wegen der zu geringen Kohortengröße erfolgte keine Einteilung nach Jahren des beobachteten Follow-Ups.

Zusätzlich begrenzt auch in dieser Arbeit die Kohorte der DSA-Patienten von $n = 29$ und DSA HLAI $n = 27$ die statistische Aussagekraft.

In die Ausschlusskriterien wurden arterielle und venöse Stenosen und Thrombosen nicht aufgenommen, so dass diese Form der Transplantatschädigung nicht abgegrenzt werden konnte. Auch weisen Kadaverspenden gegenüber Lebendspenden eine verlängerte Ischämiezeit auf, die das Leberparenchym negativ beeinflusst. Auf eine Unterteilung an dieser Stelle wurde verzichtet.

Im Hinblick auf die klinische Datenerhebung zeigten sich einige Komplikationen mit Ungenauigkeiten behaftet. So wurden etwa bei den biliären Stenosen nicht zwischen Stenosen im Bereich der Anastomose und intrahepatischen Stenosen unterschieden. Die akute Leberabstoßung wurde nur auf der Intensivstation als solche dokumentiert, so dass keine Informationen zu etwaigen späteren akuten Abstoßungsereignissen vorlagen. Auch ein Wechsel oder eine Reduktion der Immunsuppression floss nicht mit ein. Da das Erstauftreten einer Infektion, Sepsis, Cholestase oder Cholangitis oft nicht zeitlich exakt zu ermitteln war, wurde hier grob in „innerhalb der ersten sechs Monate“ und „nach mindestens sechs Monaten“ differenziert. Ferner wurden bei der Aufnahme von Cholestasen und Cholangitiden mögliche

Ursachen wie ERCP-Untersuchungen oder Stenosen nicht einbezogen (Sharma et al. 2008; Musat et al. 2011).

Im Universitätsklinikum Jena werden zudem keine Routinebiopsien der Leber gewonnen sowie die Sonographien von wechselnden Ärztinnen und Ärzten durchgeführt. Daher konnten beide Untersuchungen nicht in die Studie einfließen. Eine Aussage über die Fibrosierung des Transplantats war nicht möglich.

Schließlich folgte das Antikörper-Screening der Patienten keinem festen Schema und wurde meist nur einmal nach LTX durchgeführt. Das Auftreten persistierender Antikörper sowie eine Antikörperneubildung in den Jahren post-transplant, kann somit nicht beurteilt werden.

7.5 Ergebnisse der Arbeit im Vergleich zur derzeitigen Literatur

In dieser deskriptiven Arbeit wurde der klinische Verlauf von 118 Patienten im Durchschnitt 5 Jahre (3-7 Jahre) nach LTX ausgewertet. Der MFI-Cut-off lag bei 1500. Ähnlich wie in anderen Studien, bildeten 25 % aller Patienten DSA, 21 % aller Patienten gegen HLA-Klasse-II (Vandevorde et al. 2018; Del Bello et al. 2015). Das Auftreten der DSA HLAI wurde mit verschiedenen Komplikationen abgeglichen und eine mögliche Beeinflussung geprüft.

In den letzten zehn Jahren wurden verstärkt negative Einflüsse von DSA auf das Lebertransplantat untersucht. So sollen DSA zu einer akuten Antikörper-medierten-Abstoßung, einer akzelerierten Fibrose sowie einer biliären Stenose an der Anastomose führen und letztlich dadurch einer chronischen Abstoßung den Weg bereiten (Del Bello et al. 2016). Ebenso wird der Einfluss von DSA auf das Transplantat- und Patientenüberleben diskutiert.

Um für eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu sorgen, wurden Studien, die sich auf präformierte Antikörper oder Hepatitis-C-Patienten konzentrierten, ausgeschlossen. Zudem wurden die Höhe des MFI-Cut-offs, der Beobachtungszeitraum und die Patientenzahl, sofern vorliegend, angeführt, da alle drei Parameter notwendig für die Einordnung der Ergebnisse sind. Für die Literaturrecherche wurden die Datenbanken PubMed (NLM) sowie Web of Science Core Collection hinzugezogen.

7.5.1 Akute Antikörper-medierte-Abstoßung (aAMR)

Musat et al. stellten einen Zusammenhang zwischen akuter zellulärer Abstoßung (T-Zell-medierte-Abstoßung) und zirkulierenden DSA sowie positiver C4d-Anfärbung her. In dieser retrospektiven Querschnittsstudie bildeten 17 Patienten DSA, wobei eine MFI > 500 bereits als positiv galt (Musat et al. 2011). Ebenso konnten zirkulierende DSA sowie eine positive C4d-Anfärbung mit einer akuten Antikörper-medierten-Abstoßung in Verbindung gebracht

werden (O'Leary and Michelle Shiller et al. 2014). In nachfolgenden Studien verfestigte sich die Annahme, dass gerade bei sensibilisierten Patienten DSA mit einer hohen MFI und positiver C4d-Anfärbung zu akuten Abstoßungen führten. Diese kann sowohl Antikörper-mediiert als auch T-Zell-mediiert auftreten (Demetris et al. 2016; Kim et al. 2016; Paterno et al. 2012).

Zudem konnte gezeigt werden, dass eine akute Leberabstoßung und portale Fibrose bei Patienten mit de novo DSA (n = 26) innerhalb des ersten Jahres häufiger auftraten (Vandevoorde et al. 2018).

In der vorliegenden Arbeit wiesen 6 % der Patienten eine akute Leberabstoßung auf. Dieser Wert ist allerdings mit Ungenauigkeiten behaftet. Einerseits wurden akute Leberabstoßungen nicht durchgängig dokumentiert, so dass nicht alle Ereignisse zur Verfügung standen. Andererseits liegt der Fokus der Arbeit auf dem Langzeitverlauf der Patienten. So wurden durch die Auswahlkriterien Patienten, die innerhalb der ersten 84 Tage verstarben oder retransplantiert wurden, ausgeschlossen. In diesem Zeitraum finden jedoch akute Leberabstoßungen verstärkt statt (Dogan et al. 2018).

7.5.2 Chronische Antikörper-mediierte-Abstoßung (cAMR)

Einige retrospektive Studien der letzten 10 Jahre sehen eine Verknüpfung von DSA und cAMR. So verglich eine Studie 39 Patienten mit chronischer Abstoßung mit 39 Patienten ohne chronische Abstoßung nach LTX. Das mediane Überleben der Kohorte mit chronischer Abstoßung betrug 15 Monate, das der Kohorte ohne chronische Abstoßung 159 Monate. Bei einem MFI-Cut-off von > 1000, wiesen 36 cAMR-Patienten, in der Vergleichskohorte aber nur 26 Patienten DSA auf (p = 0.003). Zusätzlich präsentierten Patienten mit cAMR und DSA eine stark erhöhte MFI (> 5000) (O'Leary et al. 2011). Ein Jahr später wurden die Ergebnisse in einer Folgestudie um den Nachweis ergänzt, dass Patienten mit chronischer Rejektion (n = 39) im Vergleich mit der Kontrollgruppe (n = 66), vermehrt de novo DSA und multiple IgG, besonders IgG1 und IgG3, aufwiesen (Kaneku et al. 2012). Ähnlich hierzu wurde bei 19 pädiatrischen Patienten mit cAMR eine höhere Rate an de novo DSA, besonders DSA HLAII gefunden. Der MFI-Cut-off lag bei > 1500 (Grabhorn et al. 2015). Eine andere Studie verglich 45 Patienten mit DSA (MFI > 10.000) mit Patienten ohne DSA. DSA-Patienten zeigten hier bei normalen Leberfunktionstestungen ein erhöhtes Risiko, subtile Inflammationen und spezifische Fibrosemuster zu entwickeln (O'Leary et al. 2016).

Sollten DSA mit einer hohen MFI, multiplen IgGs oder IgG3 vorliegen, kann eine subklinische chronisch-progrediente Transplantatschädigung vermutet werden. Die angeführten Studien legen daher ein Monitoring der DSA und der MFI nach Transplantation nahe. Dennoch ist,

auch wegen der kleinen Kohorten mit $n < 50$, Skepsis gegenüber dem Einfluss der DSA berechtigt (Vandevoorde et al. 2018; Trotter 2016).

7.5.3 Akzelerierte Fibrose, Ischemic type biliary lesions (ITBL), Duktopenie und biliäre Stenose

In einigen Studien lag der Fokus weniger auf der cAMR als komplexe Reaktion, sondern mehr auf dem Zusammenhang von Parenchymschäden und DSA. In ihrem viel zitierten Artikel fanden Miyagawa-Hayashino et al. ein erhöhtes Risiko für eine Transplantatfibrose bei Patienten mit DSA nach pädiatrischer Leberlebendspende. Der MFI-Cut-off lag bei > 1000 , der Beobachtungszeitraum durchschnittlich bei 11 Jahren (5-20 Jahre). Patienten mit DSA wiesen nach einem Jahr ein Verhältnis von milder zu intermediärer akuter Abstoßung von 6:9 ($n = 15$) auf. Patienten ohne DSA hingegen eines von 4:1 ($n = 5$) (Miyagawa-Hayashino et al. 2012). Das erhöhte Risiko für eine Transplantatfibrose bestätigte sich in weiteren Studien (Del Bello et al. 2014; Salah et al. 2014; Tokodai et al. 2018). Patienten mit dauerhaft erhöhten Leberenzymen weisen unter reduzierter Immunsuppression ein erhöhtes Risiko einer akzelerierten Fibrose auf. Hier empfiehlt es sich, ein erneutes DSA-Screening durchzuführen (Del Bello et al. 2014). Zudem ist es sinnvoll, vor Reduktion oder Absetzen von Immunsuppressiva einen aktuellen DSA-Status zu erheben und nur in DSA-Abwesenheit die immunsupprimierende Medikation zu erniedrigen (Jucaud et al. 2018; Girnita et al. 2010). Die Detektion der Fibrose ist mittels Biopsie, transientser Elastographie/Sonographie oder LiMAX-Test möglich. Da hierfür nicht ausreichend Daten vorlagen, konnten in diese Arbeit Fibrosen als Verlaufsparmter nicht einbezogen werden.

Bei insgesamt 4 Patienten wurden in dieser Studie eine ITBL beschrieben. Auf Grund der kleinen Kohortengröße sind hier statistische Schlüsse nicht möglich. In derzeitigen Publikationen findet sich wenig über den Zusammenhang von ITBL und DSA. Iacob et al. sahen beispielsweise keine Verbindung zwischen Patienten mit ITBL ($n = 37$) und dem Auftreten von DSA HLAI (MFI nicht vorliegend, Follow-Up circa 2-3 Jahre). Allerdings war ein höheres Alter der Empfänger (> 50 Jahre) mit ITBL verknüpft (Iacob et al. 2012).

Im Gegensatz zu ITBL werden Duktopenien verstärkt in Zusammenhang mit DSA gebracht. Hier wird vor allem die retrospektive Studie von Musat et al. zitiert, die eine Verbindung von DSA und Duktopenie (Verlust von über 50 % der Gallengänge in den Periportalfeldern) nahelegt. In der Studie wurden 17 Patienten mit DSA eingeschlossen und der MFI-Cut-off lag bereits bei 500 (Musat et al. 2011).

Neben einer Rarefizierung der Gallengänge werden DSA häufig mit Gallengangstenosen in Verbindung gebracht. Bei dieser Komplikation gilt es, zwischen den langstreckigen,

intrahepatischen Stenosen und den oft kurzstreckigen Stenosen im Bereich der Anastomose zu differenzieren. Entgegen der Annahme, dass es sich bei den Anastomosenstenosen vor allem um eine chirurgische Komplikation handelt, konnte ein Zusammenhang zwischen Anastomosenstenosen (n = 40) und DSA HLAII belegt werden (Follow-Up circa 2-3 Jahre, MFI nicht bekannt) (Iacob et al. 2012).

Nicht-Anastomosestenosen hingegen können makroangiopathischen oder mikroangiopathischen Ursprungs sein. Während erstere meist durch arterielle Thrombosen verursacht werden, sind letztere durch lange Ischämiezeiten, den Herztod des Donors oder immunologisch bedingt. Zu den immunologischen Ursachen zählen chronische Rejektion, ABO-Inkompatibilität, autoimmune Hepatitis oder primär sklerosierende Cholangitis (Sharma et al. 2008; Moench et al. 2003).

Eine Studie, die eine Verbindung zwischen DSA und Nicht-Anastomosestenosen beschreibt, fand sich in der Literaturrecherche nicht. Lediglich ein fehlender Zusammenhang zwischen DSA und Nicht-Anastomosestenosen im ersten Jahr nach LTX ließ sich belegen. In dieser Studie wurden 68 Patienten mit Nicht-Anastomosestenosen und 83 Patienten ohne Stenosen auf präformierte und de novo DSA untersucht (den Dulk et al. 2018).

Song et al. veröffentlichten eine dieser Arbeit sehr ähnliche Studie. Sie beschrieben das Outcome von 219 Leberlebendspende-Patienten und stellten Patienten mit DSA (n = 32) solchen ohne DSA gegenüber. Während der ersten 28 Monate (5-52 Monate) wurde kein Unterschied signifikant. Jedoch kam es bei Patienten mit multiplen DSA (n = 14) häufiger zu biliären Stenosen, akuten Leberabstoßungen und verkürztem LTX-Überleben (Song et al. 2015).

Im Gegensatz dazu wiesen in der vorliegenden Arbeit nur 7 Patienten multiple DSA auf und der Beobachtungszeitraum war mit 3-7 Jahren deutlich länger angelegt. Biliäre Stenosen traten hier deskriptiv bei DSA HLAII-Patienten zwar früher (MW 4 Monate, 0-7 Monate), aber nicht häufiger, als bei nAK-Patienten (MW 12 Monate, 0-74 Monate), auf. Cholangitiden waren während des ersten halben Jahres vermehrt bei nDSA-Patienten zu beobachten. Nach dem ersten halben Jahr traten Cholangitiden deskriptiv am häufigsten bei Patienten mit DSA HLAII auf.

Die Bildung der nDSA an sich kann, unabhängig von der LTX, als Resultat einer Immunisierung durch etwa Transfusionen oder Infekte betrachtet werden (Murphy and Weaver 2017).

7.5.4 Abszesse, CMV-Infektionen, Infektionen und Sepsis

In der vorliegenden Arbeit wurde zusätzlich eine Verknüpfung von DSA mit Infektionen, insbesondere CMV-Infektionen, Abszessen sowie Sepsis geprüft. Eine hohe Immunsuppression begünstigt Infektionen, so dass neben der Infektbehandlung auch eine Reduktion der Immunsuppressiva notwendig werden kann. Diese wiederum sorgt für eine vermehrte immunologische Aktivität und Bildung von DSA. Infektionen führen zudem vermehrt zu einer Exprimierung von HLA-Klasse-II-Antigenen auf dem Leberendothel („Two-Hit-Hypothese“), was eine vermehrte DSA HLAII-Bindung begünstigt (Kim et al. 2016).

Statistisch und deskriptiv konnten diese Mechanismen in der vorliegenden Arbeit nicht belegt werden. DSA, Infekte sowie Sepsis standen nicht miteinander in Zusammenhang. Ähnlich hierzu untersuchte eine Studie unter anderem Patienten mit de novo DSA (n = 21, MFI > 1000) auf CMV-Infektionen und konnte hier keinen Zusammenhang belegen. Das Follow-Up lag bei 34 Monaten (1,5 - 77 Monate) (Del Bello et al. 2015).

Wenn auch kein direkter Zusammenhang hergestellt werden konnte, wird CMV dennoch häufig als unabhängiger Risikofaktor für eine Transplantatabstoßung genannt (Dogan et al. 2018; Iacob et al. 2015).

7.5.5 Organversagen, Retransplantationen und Versterben

In dieser Arbeit wurden keine Mortalitätsunterschiede in den Kohorten signifikant. Hervorzuheben ist, dass 19 % (n = 5) Patienten mit DSA HLAII verstarben, aber nur 7 % (n = 5) der Patienten ohne Antikörper. Patienten mit DSA HLAII verstarben später (im Mittel 60 Monate, 36 - 89 Monate) als nAK-Patienten (im Mittel 29 Monate, 13 - 39 Monate). Eine chronisch progrediente Transplantatschädigung durch DSA HLAII könnte diese Häufung des Patientenversterbens im 5. Jahr erklären. Unter Berücksichtigung der Todesursachen der DSA HLAII-Patienten (3 der 5 verstorbenen Patienten erlitten ein Karzinom) ist diese Theorie jedoch nicht aufrechtzuerhalten. Der chronische Einfluss der DSA HLA II auf das Überleben ist an dieser Stelle weder beleg- noch widerlegbar.

Andere Studien zeigten allerdings mit Einbezug früher Leberabstoßungen ein verringertes Patienten- oder Transplantatüberleben bei Patienten mit DSA. In einer Studie konnte beispielsweise ein Zusammenhang zwischen DSA und erhöhtem Transplantatversagen sowie erhöhter Mortalität im ersten Jahr nach LTX festgestellt werden. Es wurden 61 Patienten mit DSA untersucht und erst eine MFI > 5000 als positiv gewertet (Kaneku et al. 2013).

Eine andere Studie von Iacob et al. belegte bei 28 Patienten DSA HLAII und C4d-Ablagerungen im Gewebe. In dieser Kohorte kam es zu einem 4,3-mal schnelleren Transplantatversagen als in der Vergleichskohorte, die nur DSA HLAII aufwies (65,2 Monate versus

112,2 Monate). Das 1-Jahres-Überleben der Organe lag bei 84 % versus 97 %. Das 5-Jahres-Überleben lag bei 50 % versus 84 %. LTX-Patienten wurden prospektiv über ein Jahr eingeschlossen, dabei betrug der Beobachtungszeitraum 1,3 bis 9,9 Jahre. Eine NBG-Ratio ab 3.0 wurde als Cut-off gesetzt (Iacob et al. 2015).

In einer anderen Studie wurden zudem DSA HLAI als unabhängige Risikofaktoren für ein Transplantatversagen nach LTX genannt (den Dulk et al. 2018).

Auch wenn diese Ergebnisse für einen starken Einfluss der DSA (unter Einbezug der frühen Leberabstoßungen) sprechen, gibt es einige Studien, die diesen widerlegen.

So führten Del Bello et al. an, dass sich das Überleben der Patienten weder in den Gruppen „DSA versus non DSA“ noch „transiente DSA (n = 10) versus persistierende DSA (n = 25)“ unterschied. Der Beobachtungszeitraum lag im Median bei 7,1 Jahren (9 - 261 Monate) und der Cut-off der MFI bei > 1000 (Del Bello et al. 2014). Im gleichen Jahr konnte gezeigt werden, dass nach zwei Jahren Beobachtungszeit kein Zusammenhang zwischen einem Transplantatverlust und HLA-DR-DSA (n = 25) oder einem positiven C4d-Test bestand (Salah et al. 2014). Gegen eine Verbindung von DSA und einem reduzierten Patienten- und Transplantatüberleben sprechen sich auch weitere Studien aus (Vandevoorde et al. 2018; Del Bello et al. 2015).

Festzuhalten ist, dass sich aus den Studien sowohl Argumente und Belege für als auch gegen einen Einfluss der DSA auf das Transplantat- und Patientenüberleben finden lassen.

Ein Studienaufbau, der wie in der vorliegenden Arbeit dezidiert den chronischen Verlauf, unter Ausschluss früher Ereignisse, evaluiert, fand sich in der Literaturrecherche jedoch nicht.

7.5.6 C1q-Bindung, IgG-Subtypen sowie C4d-Test

Die Gruppe der DSA ist divers und einige Subtypen schädigen das transplantierte Organ mehr als andere (Kaneku et al. 2012; Ponsirenas et al. 2018). O'Leary et al. untersuchten 749 Patienten 10 bis 14 Monate nach LTX auf de novo DSA. Diese wurden von 61 Patienten gebildet. Bei weiterer Untersuchung der De-novo-DSA-Patienten waren 67 % C1q-fixierend und alle C1q-fixierenden DSA gegen HLA-Klasse-II gerichtet. 62 % der Patienten bildeten die stark komplementaktivierende Untergruppe IgG3 aus, hiervon waren 97 % der DSA gegen HLA-Klasse-II gerichtet. Eine MFI ab 5000 galt als positiv. Das Auftreten von DSA an sich, aber besonders de novo IgG3-DSA und C1q-fixierende DSA, galten als unabhängige Risikofaktoren für das Versterben (O'Leary et al. 2015).

C1q kann den klassischen Weg der Komplementkaskade einleiten. Antikörper, die C1q binden, sind daher verstärkt mit Zelllysen assoziiert. Ähnlich der C1q-Bindung, sind vermehrte

Ablagerungen der Komplementkomponente C4d am Endothel Ausdruck der Komplementaktivierung und in Kombination mit DSA hinweisend auf ein vermindertes Transplantatüberleben (Demetris et al. 2015; Musat et al. 2011; Iacob et al. 2015).

Als Ursache für die besonders schädigende Wirkung der Antikörper-Subtypen IgG3, aber auch IgG1, wird neben deren Komplementaktivierung die antikörperabhängige zellvermittelte Toxizität (ADCC) gesehen. Hier binden Zellen des angeborenen Immunsystems (NK-Zellen, Granulozyten etc.) membranständiges IgG3 oder IgG1 über den Fc-Rezeptor (CD16) und es kommt zur Sekretion von zytotoxischen Proteinen (Murphy and Weaver 2017).

7.5.7 Behandlung der DSA

Kommt es bei Patienten zur Bildung von DSA in Kombination mit einer hohen MFI, multiplen DSA, C1q-bindenden Antikörpern, multiplen IgG oder einer deutlichen C4d-Anfärbung, ist unabhängig der Klinik an weitere Schritte zu denken. Es sollte ein engmaschiges Antikörper-Monitoring und weitere Diagnostik erfolgen. Zudem ist es sinnvoll, die Therapieadhärenz zu kontrollieren, da eine fehlende Einnahmetreue der Immunsuppressiva genauso zu vermehrter DSA-Bildung führen kann (Trotter 2016; Del Bello et al. 2015). Liegt eine Therapieadhärenz vor, ist eine Behandlung der vermehrten DSA-Bildung durch Erhöhung der Immunsuppression, Plasmaaustausch oder Immunadsorption anzudenken, da eine Schädigung des Transplantats nicht auszuschließen ist (Demetris et al. 2016; Trotter 2016; Del Bello et al. 2016).

7.6 Zukünftiger Studienaufbau

Um genauere Aussagen über den chronischen Einfluss von DSA treffen zu können, ist ein verändertes und erweitertes Studiendesign nötig. Möglichkeiten sind hier:

1. Ausschlusskriterien: Eine Erweiterung der Ausschlusskriterien auf Patienten mit arterieller und venöser Stenose sowie Thrombose empfiehlt sich, um diese Ursachen der chirurgischen Transplantatschädigung auszuschließen.
2. Beobachtungszeitraum: Ein Follow-Up von mindestens fünf Jahren ist notwendig, um chronische LTX-Schädigungen besser einzufangen. Eine gleich lange Beobachtungsdauer der Patienten erhöht die Homogenität der Kohorten.
3. Antikörper-Screening: Alle Patienten sollten ein jährliches Antikörper-Screening erhalten. So lassen sich transiente von persistierenden DSA abgrenzen und ein Abstand der Messungen von mehreren Monaten ist gewahrt. Der Antikörper-Status der Patienten ändert

sich durch Transfusionen, Infekte, Schwangerschaften oder eine Umstellung der Immunsuppression auch noch Jahre nach LTX.

Ein jährliches Screening erlaubt zudem eine Aussage über die Expositionsdauer von DSA. Je länger die Exposition, desto wahrscheinlicher wird eine Schädigung des Transplantats. Ähnlich gewichtig ist die MFI der Patienten. Gerade Patienten mit einer MFI > 5000 scheinen einem hohen Risiko ausgesetzt zu sein.

Um besonders schädigende DSA zu identifizieren, ist eine Untersuchung der DSA-Patienten-Seren auf C1q-fixierende Antikörper und eine Unterteilung in IgG-Subgruppen sinnvoll.

4. Klinische Parameter: Im Hinblick auf die Erfassung der Komplikationen sollten ITBL und akute Leberabstoßungen nur erneut eingeschlossen werden, wenn eine durchgängige Dokumentation der Ereignisse vorliegt. Auch ist die erneute Aufnahme von de novo Diabetes mellitus und Abszessen als einzelne Gruppe nicht zwingend notwendig. Bei biliären Stenosen kann in Anastomosestenosen und Nicht-Anastomosestenosen unterteilt werden. Zudem ist es sinnvoll, bei Cholestasen und Cholangitiden einen Bezug zu ihrer Ursache (ERCP, Stenose etc.) herzustellen.

5. Zusätzliche Parameter:

1. Der Einbezug der Ischämiezeit und des Donoralters ermöglicht eine Einschätzung der Güte des Transplantats.

2. Dauerhaft erhöhte Leberlaborwerte, die sich keiner konkreten Ursache zuordnen lassen, sind äußerst interessant, da sie auf chronisch destruktive Prozesse hinweisen und möglicherweise in Zusammenhang mit DSA stehen (Del Bello et al. 2014).

3. In der LTX-Sprechstunde könnte die Adhärenz der Patienten via Fragebogen erfasst werden, da die Einnahmetreue der Immunsuppressiva maßgeblich die Aktivität des Immunsystems beeinflusst. Transiente DSA oder de novo DSA können durch derartige Schwankungen bedingt sein.

4. Außerdem empfiehlt sich als weiterer Parameter der LiMAX-Test (Maximum-Liver-Function-Capacity-Test), da dieser Aussagen über die Funktionsleistung des Transplantats, eine Fibrose oder Zirrhose erlaubt und so Bioptate entbehrlich macht.

8 Schlussfolgerungen

8.1 Aussagen der Arbeit

In dieser deskriptiv-longitudinalen Studie wurden 118 Patienten nach LTX über einen Zeitraum von 3 bis 7 Jahren begleitet. Retro- wie prospektiv wurden Komplikationen aufgenommen und ein möglicher Einfluss von DSA auf den klinischen Verlauf der Patienten geprüft. Die Arbeit zeichnet sich durch ihren Fokus auf chronische Antikörper-medierte-Transplantatschäden aus, da in vergleichbaren Studien stets früh post-transplant verstorbene Patienten eingeschlossen wurden. Zudem setzt sich diese Arbeit durch die umfangreiche Erfassung klinischer Parameter und einen überdurchschnittlich langen Beobachtungszeitraum von den meisten Studien ab. Hierdurch war es möglich, verschiedenste Parameter gegeneinander abzuwägen und in Bezug zu setzen. Auch wenn keines der Ergebnisse statistische Signifikanz erreichte, ging aus den Daten hervor, dass Patienten mit DSA HLAI früher biliäre Stenosen und nach einem halben Jahr mehr Cholangitiden aufwiesen als Patienten ohne Antikörper. Patienten ohne donorspezifische Antikörper zeigten vermehrt im ersten halben Jahr nach LTX Cholangitiden, unterschieden sich sonst aber nur geringfügig von der Gruppe ohne Antikörper. Das Versterben der DSA HLAI-Patienten lässt sich in dieser Arbeit nicht in Zusammenhang mit DSA bringen.

8.2 Trend der Studien

In der umfangreichen Literaturrecherche fiel bei den erfassten Studien zunächst ihre begrenzte statistische Aussagekraft auf. Die Kohorte der Patienten mit DSA überstieg nie $n = 100$ und unterschritt meist $n = 50$. Die untersuchten Patientenkollektive, der Zeitraum der Untersuchung und die untersuchten DSA-Untergruppen unterschieden sich häufig deutlich, was einen Vergleich erheblich erschwert. Zudem wurden viele Artikel von einigen wenigen Forschungsgruppen publiziert.

Inhaltlich lag der Fokus der Literatur verstärkt auf der T-Zell-vermittelten-Abstoßung sowie auf dem schädigenden Einfluss der Antikörper-medierten-Abstoßung durch donorspezifische HLA-Antikörper.

Viele Studien belegten einen Einfluss bestimmter DSA nicht nur auf akute Abstoßungsepisoden, sondern auch auf chronische Schädigungen des Transplantats mit typischen histologischen Mustern. Gerade histologische Parameter, wie eine akzelerierte Fibrose oder Duktopenie, konnten mit DSA in Verbindung gebracht werden. Studien, die keinen Einfluss von DSA nachweisen konnten, zeichneten sich häufig durch ein weniger geeignetes

Studiendesign aus. So verfügten sie entweder über einen sehr kurzen Beobachtungszeitraum oder führten lediglich vor Transplantation eine Antikörpertestung durch.

Eine Verbindung von DSA und biliären Stenosen zeigten nur wenige Studien. Genauso waren DSA und ITBL in der Literaturrecherche nicht miteinander in Verbindung zu bringen. Auch ein Zusammenhang von DSA und vermehrten Infektionen (auch CMV-Infektionen) oder Sepsis wurde nicht sichtbar. Die meisten Studien führten solche Komplikationen nur am Rande an.

Da der Beobachtungszeitraum meist unter 5 Jahren oder nur im Mittel darüber lag, konnte zwar ein Einfluss bestimmter DSA auf chronische Transplantatschäden gezeigt werden, die Effekte blieben jedoch überwiegend subklinisch. Einen Zusammenhang zwischen reduziertem Patienten- oder Transplantatüberleben und DSA fand sich häufig in Assoziation mit einer akuten Leberabstoßung. Die Studienlage zeigte sich hier besonders widersprüchlich.

Insgesamt wurde in der Literaturrecherche deutlich, dass die alleinige Untersuchung von DSA oder DSA HLAII wenig zielführend ist. Ähnlich den Ergebnissen dieser Arbeit, wiesen viele Patienten mit DSA ein komplikationsarmes Langzeitüberleben auf. Erst mit dem Einbezug von einer MFI über 5000, C1q-Bindungen, IgG-Subgruppen, persistierenden DSA sowie positiven C4d-Tests, können chronisch schädigende DSA identifiziert werden. Ist dies der Fall, wird ein engmaschiges Antikörper-Monitoring und weitere Diagnostik empfohlen, um eine adäquate Therapie einleiten zu können.

8.3 Ausblick

Eine Transplantation ist ein komplexes Ereignis, bei welchem das Überleben der Patienten von einer Vielzahl von Faktoren mitbestimmt wird. Daher gilt es in Zukunft, den Einfluss bestimmter DSA auf das Transplantatüberleben sauber herauszuarbeiten. Multizentrische Studien könnten DSA-Kohortengrößen ($n = 100$) hervorbringen, die statistisch valide Schlüsse zuließen. Zusätzlich ermöglichen dauerhaft erhöhte Leberparameter in Kombination mit dem LiMAX-Test, eine Einschätzung der Funktionsleistung und Fibrosierung des Transplantats. Störgrößen müssen erkannt und abgegrenzt werden, sonst wird es weiter bei vagen Formulierungen bleiben. Entscheiden hierfür ist, eine Bandbreite von Parametern vorzulegen und in Abhängigkeit zu setzen. Sollte beispielsweise nach LTX ein fortgesetzter Alkoholabusus oder eine sporadische Einnahme von Immunsuppressiva bestehen, sind das gewichtige Faktoren, von denen die Forschenden wissen sollten. Unter Einbezug dieser Faktoren sind in kommenden Studien präzisere Antworten auf die Frage nach dem Einfluss von DSA nach Lebertransplantation zu erwarten.

9 Literatur und Quellen

- Aberg F, Isoniemi H, Hockerstedt K. Long-term results of liver transplantation. *Scand J Surg*. 2011;100(1):14–21. doi:10.1177/145749691110000104.
- Abramowicz D, Oberbauer R, Heemann U, Viklicky O, Peruzzi L, Mariat C, et al. Recent advances in kidney transplantation: a viewpoint from the Descartes advisory board*. *Nephrol Dial Transplant*. 2018;33(10):1699–707. doi:10.1093/ndt/gfx365.
- Abu-Elmagd KM, Wu G, Costa G, Lunz J, Martin L, Koritsky DA, et al. Preformed and de novo donor specific antibodies in visceral transplantation: long-term outcome with special reference to the liver. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2012;12(11):3047–60. doi:10.1111/j.1600-6143.2012.04237.x.
- Adam R, Karam V, Delvart V, O'Grady J, Mirza D, Klempnauer J, et al. Evolution of indications and results of liver transplantation in Europe. A report from the European Liver Transplant Registry (ELTR). *J Hepatol*. 2012;57(3):675–88. doi:10.1016/j.jhep.2012.04.015.
- American Society of Transplantation. OPTN/SRTR 2016 Annual Data Report: Liver. 2016.
- Cardarelli F, Pascual M, Tolckoff-Rubin N, Delmonico FL, Wong W, Schoenfeld DA, et al. Prevalence and significance of anti-HLA and donor-specific antibodies long-term after renal transplantation. *Transpl Int*. 2005;18(5):532–40. doi:10.1111/j.1432-2277.2005.00085.x.
- Cuadrado A, San Segundo D, Lopez-Hoyos M, Crespo J, Fabrega E. Clinical significance of donor-specific human leukocyte antigen antibodies in liver transplantation. *World J Gastroenterol*. 2015;21(39):11016–26. doi:10.3748/wjg.v21.i39.11016.
- Data | UNOS. Data | UNOS. 2014. <https://unos.org/data/>. Accessed 29 Nov 2018.
- Del Bello A, Congy-Jolivet N, Muscari F, Lavayssiere L, Esposito L, Cardeau-Desangles I, et al. Prevalence, incidence and risk factors for donor-specific anti-HLA antibodies in maintenance liver transplant patients. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2014;14(4):867–75. doi:10.1111/ajt.12651.
- Del Bello A, Congy-Jolivet N, Danjoux M, Muscari F, Lavayssiere L, Esposito L, et al. De novo donor-specific anti-HLA antibodies mediated rejection in liver-transplant patients. *Transpl Int*. 2015;28(12):1371–82. doi:10.1111/tri.12654.
- Del Bello A, Congy-Jolivet N, Danjoux M, Muscari F, Kamar N. Donor-specific antibodies and liver transplantation. *Hum Immunol*. 2016;77(11):1063–70. doi:10.1016/j.humimm.2016.02.006.

- Demetris AJ, Zeevi A, O'Leary JG. ABO-compatible liver allograft antibody-mediated rejection: an update. *Curr Opin Organ Transplant*. 2015;20(3):314–24. doi:10.1097/MOT.0000000000000194.
- Demetris AJ, Bellamy C, Hubscher SG, O'Leary J, Randhawa PS, Feng S, et al. 2016 Comprehensive Update of the Banff Working Group on Liver Allograft Pathology: Introduction of Antibody-Mediated Rejection. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2016;16(10):2816–35. doi:10.1111/ajt.13909.
- den Dulk AC, Shi X, Verhoeven CJ, Dubbeld J, Claas FHJ, Wolterbeek R, et al. Donor-specific anti-HLA antibodies are not associated with nonanastomotic biliary strictures but both are independent risk factors for graft loss after liver transplantation. *Clin Transplant* 2018. doi:10.1111/ctr.13163.
- Deutsche Stiftung Organtransplantation. Jahresbericht der DSO zur Organspende 2017. 2017.
- Dogan N, Hüsing-Kabar A, Schmidt HH, Cicinnati VR, Beckebaum S, Kabar I. Acute allograft rejection in liver transplant recipients: Incidence, risk factors, treatment success, and impact on graft failure. *J Int Med Res*. 2018;46(9):3979–90. doi:10.1177/0300060518785543.
- Foundation EI. Organ match characteristics | Eurotransplant. 2018. https://www.eurotransplant.org/cms/index.php?page=organ_match_char. Accessed 13 Nov 2018.
- Girnita A, Mazariegos GV, Castellaneta A, Reyes J, Bentlejewski C, Thomson AW, Zeevi A. Liver transplant recipients weaned off immunosuppression lack circulating donor-specific antibodies. *Hum Immunol*. 2010;71(3):274–6. doi:10.1016/j.hum-imm.2009.12.002.
- Grabhorn E, Binder TM, Obrecht D, Brinkert F, Lehnhardt A, Herden U, et al. Long-term Clinical Relevance of De Novo Donor-Specific Antibodies After Pediatric Liver Transplantation. *Transplantation*. 2015;99(9):1876–81. doi:10.1097/TP.0000000000000638.
- Iacob S, Cicinnati VR, Dechene A, Lindemann M, Heinemann FM, Rebmann V, et al. Genetic, immunological and clinical risk factors for biliary strictures following liver transplantation. *Liver Int*. 2012;32(8):1253–61. doi:10.1111/j.1478-3231.2012.02810.x.
- Iacob S, Cicinnati VR, Lindemann M, Heinemann FM, Radtke A, Kaiser GM, et al. Donor-Specific Anti-HLA Antibodies and Endothelial C4d Deposition-Association With Chronic Liver Allograft Failure. *Transplantation*. 2015;99(9):1869–75. doi:10.1097/TP.0000000000000613.

- IMD Institut für Medizinische Diagnostik Berlin-Potsdam GbR, Diagnostikinformation Nr. 297, Komplementdefekte bei bakteriellen Infekten und Autoimmunerkrankungen, <https://www.imd-berlin.de/fachinformationen/diagnostikinformationen/komplementdefekte.html>, Accessed 2020.
- Jucaud V, Shaked A, DesMarais M, Sayre P, Feng S, Levitsky J, Everly MJ. Prevalence and impact of de novo DSA during a multicenter immunosuppression withdrawal trial in adult liver transplant recipients. *Hepatology* 2018. doi:10.1002/hep.30281.
- Kaneku H, O'Leary JG, Taniguchi M, Susskind BM, Terasaki PI, Klintmalm GB. Donor-specific human leukocyte antigen antibodies of the immunoglobulin G3 subclass are associated with chronic rejection and graft loss after liver transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2012;18(8):984–92. doi:10.1002/lt.23451.
- Kaneku H, O'Leary JG, Banuelos N, Jennings LW, Susskind BM, Klintmalm GB, Terasaki PI. De novo donor-specific HLA antibodies decrease patient and graft survival in liver transplant recipients. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2013;13(6):1541–8. doi:10.1111/ajt.12212.
- Kim PT, Demetris AJ, O'Leary JG. Prevention and treatment of liver allograft antibody-mediated rejection and the role of the 'two-hit hypothesis'. *Curr Opin Organ Transplant*. 2016;21(2):209–18. doi:10.1097/MOT.0000000000000275.
- Luminex corporation. It's All About The Stats! 2012. <https://www.luminexcorp.com/blog/its-all-about-the-stats/>. Accessed 13 Nov 2018.
- Mao Q, Terasaki PI, Cai J, Briley K, Catrou P, Haisch C, Rebellato L. Extremely high association between appearance of HLA antibodies and failure of kidney grafts in a five-year longitudinal study. *Am J Transplant*. 2007;7(4):864–71. doi:10.1111/j.1600-6143.2006.01711.x.
- Miyagawa-Hayashino A, Yoshizawa A, Uchida Y, Egawa H, Yurugi K, Masuda S, et al. Progressive graft fibrosis and donor-specific human leukocyte antigen antibodies in pediatric late liver allografts. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2012;18(11):1333–42. doi:10.1002/lt.23534.
- Moench C, Moench K, Lohse AW, Thies J, Otto G. Prevention of ischemic-type biliary lesions by arterial back-table pressure perfusion. *Liver transplantation : official*

- publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society. 2003;9(3):285–9. doi:10.1053/jlts.2003.50015.
- Mohan S, Palanisamy A, Tsapepas D, Tanriover B, Crew RJ, Dube G, et al. Donor-specific antibodies adversely affect kidney allograft outcomes. *J Am Soc Nephrol*. 2012;23(12):2061–71. doi:10.1681/ASN.2012070664.
- Morrell MR, Patterson GA, Trulock EP, Hachem RR. Acute Antibody-mediated Rejection After Lung Transplantation. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2009;28(1):96–100. doi:10.1016/j.healun.2008.09.013.
- Murphy KM, Weaver C. *Janeway's immunobiology*. 9th ed. New York, London: GS Garland Science Taylor & Francis Group; 2017.
- Musat AI, Agni RM, Wai PY, Pirsch JD, Lorentzen DF, Powell A, et al. The significance of donor-specific HLA antibodies in rejection and ductopenia development in ABO compatible liver transplantation. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2011;11(3):500–10. doi:10.1111/j.1600-6143.2010.03414.x.
- Oberle. HLA-Klasse II-Antikörpernachweis mit dem ELISA. *Arbeitsanweisung UKJ*. 2015a.
- Oberle. HLA-Typisierung mittels PCR-SSP unter Verwendung von Testkits der Firma Olerup. *Standardarbeitsanweisung UKJ*. 2015b.
- Oberle. Nachweis von HLA-Klasse I-Antikörpern mit dem ELISA. *Arbeitsanweisung UKJ*. 2015c.
- Ogura K, Terasaki PI, Koyama H, Chia J, Imagawa DK, Busutil RW. High one-month liver graft failure rates in flow cytometry crossmatch-positive recipients. *Clin Transplant*. 1994;8(2 Pt 1):111–5.
- O'Leary JG, Kaneku H, Susskind BM, Jennings LW, Neri MA, Davis GL, et al. High mean fluorescence intensity donor-specific anti-HLA antibodies associated with chronic rejection Postliver transplant. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2011;11(9):1868–76. doi:10.1111/j.1600-6143.2011.03593.x.
- O'Leary JG, Michelle Shiller S, Bellamy C, Nalesnik MA, Kaneku H, Jennings LW, et al. Acute liver allograft antibody-mediated rejection: an inter-institutional study of significant histopathological features. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2014;20(10):1244–55. doi:10.1002/lt.23948.
- O'Leary JG, Demetris AJ, Friedman LS, Gebel HM, Halloran PF, Kirk AD, et al. The role of donor-specific HLA alloantibodies in liver transplantation. *American journal of*

- transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 2014;14(4):779–87. doi:10.1111/ajt.12667.
- O'Leary JG, Kaneku H, Banuelos N, Jennings LW, Klintmalm GB, Terasaki PI. Impact of IgG3 subclass and C1q-fixing donor-specific HLA alloantibodies on rejection and survival in liver transplantation. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2015;15(4):1003–13. doi:10.1111/ajt.13153.
- O'Leary JG, Cai J, Freeman R, Banuelos N, Hart B, Johnson M, et al. Proposed Diagnostic Criteria for Chronic Antibody-Mediated Rejection in Liver Allografts. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2016;16(2):603–14.
- Olthoff KM, Smith AR, Abecassis M, Baker T, Emond JC, Berg CL, et al. Defining long-term outcomes with living donor liver transplantation in North America. *Ann Surg*. 2015;262(3):465-75; discussion 473-5. doi:10.1097/SLA.0000000000001383.
- Paterno F, Shiller M, Tillery G, O'Leary JG, Susskind B, Trotter J, Klintmalm GB. Bortezomib for acute antibody-mediated rejection in liver transplantation. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2012;12(9):2526–31. doi:10.1111/j.1600-6143.2012.04126.x.
- Ponsirenas RvG, Cazarote HB, Araújo SdA, Wanderley DC, Shimakura S, Valdameri JS, et al. Anti-HLA Donor-Specific IgG Subclasses and C1q-binding Evolution in Posttransplant Monitoring. *Transplant Direct* 2018. doi:10.1097/TXD.0000000000000823.
- Rowe P. *Statistik für Mediziner und Pharmazeuten*. 1st ed. Weinheim: Wiley-VCH-Verlag GmbH & Co. KGaA; 2012.
- Salah A, Fujimoto M, Yoshizawa A, Yurugi K, Miyagawa-Hayashino A, Sumiyoshi S, et al. Application of complement component 4d immunohistochemistry to ABO-compatible and ABO-incompatible liver transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2014;20(2):200–9. doi:10.1002/lt.23789.
- Schröder. HLA-AK-Nachweis mittels Luminex-Technologie: 07.11.2017. Arbeitsanweisung UKJ. 2017.
- Schröder. HLA-Antikörpernachweis mit Sera Screen FCT 60 Platte der Firma BAG. 2018. Accessed 13 Nov 2018.
- Sharma S, Gurakar A, Jabbour N. Biliary strictures following liver transplantation: past, present and preventive strategies. *Liver transplantation : official publication of the*

- American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society. 2008;14(6):759–69. doi:10.1002/lt.21509.
- Song SH, Kim MS, Lee JJ, Ju MK, Lee JG, Lee J, et al. Effect of donor-specific antibodies and panel reactive antibodies in living donor liver transplant recipients. *Ann Surg Treat Res.* 2015;88(2):100–5. doi:10.4174/astr.2015.88.2.100.
- Starzl TE, Ishikawa M, Putnam CW, Porter KA, Picache R, Husberg BS, et al. Progress in and Deterrents to Orthotopic Liver Transplantation, with Special Reference to Survival, Resistance to Hyperacute Rejection, and Biliary Duct Reconstruction. *Transpl P.* 1974;6(4 Suppl 1):129–39.
- Takaya S, Duquesnoy R, Iwaki Y, Demetris J, Yagihashi A, Bronsther O, et al. Positive Crossmatch in Primary Human Liver Allografts Under Cyclosporine or FK 506 Therapy. *Transplant Proc.* 1991;23(1 Pt 1):396–9.
- Terasaki PI, Ozawa M, Castro R. Four-year follow-up of a prospective trial of HLA and MICA antibodies on kidney graft survival. *Am J Transplant.* 2007;7(2):408–15. doi:10.1111/j.1600-6143.2006.01644.x.
- Tokodai K, Miyagi S, Nakanishi C, Hara Y, Nakanishi W, Miyazawa K, et al. Association of post-transplant donor-specific HLA antibody with liver graft fibrosis during long-term follow-up after pediatric liver transplantation. *Pediatr Transplant.* 2018;22(3):e13169. doi:10.1111/petr.13169.
- Trotter JF. Current Issues in Liver Transplantation. *Gastroenterol Hepatol (N Y).* 2016;12(4):214–9.
- Vandevoorde K, Ducreux S, Bosch A, Guillaud O, Hervieu V, Chambon-Augoyard C, et al. Prevalence, Risk Factors, and Impact of Donor-Specific Alloantibodies After Adult Liver Transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society.* 2018;24(8):1091–100. doi:10.1002/lt.25177.

10 Anhang

10.1 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Patientencharakteristika vor Lebertransplantation	Seite 17
Tabelle 2: Antikörper-Screening	Seite 18
Tabelle 3: Verstorbene Patienten	Seite 20
Tabelle 4: Klinik nach Lebertransplantation	Seite 21/22
Tabelle 5: Klinik nach Lebertransplantation, statistische Auswertung	Seite 23

10.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Überblick Formen der Leberabstoßung	Seite 6
Abbildung 2: MHC Komplexe	Seite 7
Abbildung 3: Struktur der Antikörper	Seite 8
Abbildung 4: Die Komplementkaskade	Seite 9
Abbildung 5: Antikörper-Follow-Ups nach Lebertransplantation	Seite 19
Abbildung 6: Boxplot Auftreten einer Biliäre Stenose	Seite 24
Abbildung 7: Kaplan-Meier Kurve Auftreten einer Biliäre Stenose	Seite 24
Abbildung 8: Auftreten einer Biliären Stenose, Cholestase oder Cholangitis	Seite 25
Abbildung 9: Boxplot Auftreten einer CMV	Seite 25
Abbildung 10: Kaplan-Meier Kurve Auftreten einer CMV	Seite 25
Abbildung 11: Barplot Infektionen nach LTX	Seite 26
Abbildung 12: Klinik nach Lebertransplantation	Seite 26
Abbildung 13: Boxplot Retransplantation oder Versterben	Seite 27
Abbildung 14: Kaplan-Meier-Kurve Retransplantation oder Versterben	Seite 27

10.3 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all jenen Menschen herzlich bedanken, die mich bei meiner Dissertation unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Settmacher für die gute Betreuung und die hilfreichen wie zielgerichteten Ratschläge.

Auch bei Frau PD Dr. Bauschke möchte ich mich sehr für die vielseitige Unterstützung und Anregungen bedanken.

Ein besonderer Dank gilt Frau Dr. Rummler, die mich über den Zeitraum der Dissertation beständig ermutigt, unterstützt und gefördert hat. Es hat mir sehr geholfen, immer zu Ihnen kommen zu können. Die Zusammenarbeit mit Ihnen hat mir viel Freude bereitet und mich sehr bereichert.

Zudem möchte ich mich bei Frau Dr. Sabine Schröder und Herrn Dr. Volker Oberle ganz herzlich bedanken. Beide standen mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite. Es war schön und bereichernd mit euch zusammenzuarbeiten. Ich erinnere mich sehr gerne an unsere gemeinsame Zeit und die vielseitigen Gespräche zurück.

Weiter möchte ich mich bei den Mitarbeitenden des Instituts für Medizinische Statistik, Informatik und Datenwissenschaften bedanken, die mir kontinuierlich weiterhalfen. Ganz besonders bei Frau Dr. Mariana Nold, die mich bei der Auswertung sehr gut beraten hat.

Nicht zuletzt möchte ich meinen Eltern, meiner lieben Großmutter, Johannes und meinen Freunden großen Dank für ihre Unterstützung und Fürsorge aussprechen.

Liebe Elisabeth, lieber Johannes, diese Arbeit ist euch gewidmet.

10.4 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützten:

Herr Professor Settmacher, Frau Dr. Rummler, Frau PD Dr. Bauschke, Frau Dr. Schröder, Herr Dr. Oberle, Mitarbeitende des Instituts für Medizinische Statistik, Informatik und Datenwissenschaften,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhielten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Nürnberg, 08.04.2020

Unterschrift der Verfasserin