

Aus der Herzchirurgischen Klinik und Poliklinik

der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Bruno Reichart

Angiopeptin – Ein Somatostatinanalogon

mit

Einfluss auf die Transplantatvaskulopathie

nach

Herztransplantation?

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Markus Müller

aus

Vilseck

Jahr

2006

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Bruno Reichart

Mitberichterstatter: Prof. Dr. A. Sellmayer
Prof. Dr. P. Boekstegers
Prof. Dr. J. Seißler

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. B. Meiser

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 23.11.2006

Gliederung

1. Einleitung
 - 1.1 Indikationsstellung zur Herztransplantation
 - 1.2 Spenderkriterien / Spendermanagement
 - 1.3 Perfusionslösungen
 - 1.4 Operationstechnik
 - 1.5 Denervation – Reinnervation
 - 1.6 Langzeitverlauf

2. Patientenkollektiv und Methoden
 - 2.1 Patientenkollektiv und Randomisierung
 - 2.1.1 Einschlusskriterien
 - 2.1.2 Ausschlusskriterien
 - 2.1.3 Randomisierung der Patienten
 - 2.2 Methoden
 - 2.2.1 Studienziel
 - 2.2.2 Studiendesign
 - 2.2.3 Studiendauer
 - 2.2.4 Vorzeitige Beendigung der Studie
 - 2.2.5 Teilnehmende Institutionen
 - 2.2.6 Medikation
 - 2.2.7 Diagnostik vor und nach Transplantation
 - 2.2.8 Ethische Gesichtspunkte
 - 2.2.9 Besondere Anmerkungen
 - 2.2.10 Angewendete statistische Verfahren

3. Ergebnisse
 - 3.1 Patientenkollektiv
 - 3.1.1 Demographie und Patienten-Charakteristika
 - 3.1.1.1 Spenderalter
 - 3.1.1.2 Empfängeralter
 - 3.1.1.3 Geschlechtsverteilung
 - 3.1.1.4 Ischämiezeit
 - 3.1.1.5 Diagnose
 - 3.1.1.6 Kriterien zur Randomisierung
 - 3.1.1.6.1 Spenderalter
 - 3.1.1.6.2 Präoperative Gesamtcholesterinwerte der Empfänger
 - 3.1.1.6.3 Positiver CMV-Status der Empfänger
 - 3.2 Überleben
 - 3.3 Transplantatvaskulopathie
 - 3.3.1 Angiographischer Vergleich
 - 3.3.1.1 Vergleich 2 Jahre nach Transplantation
 - 3.3.1.2 Vergleich 4 Jahre nach Transplantation

- 3.3.2 Vergleich mittels Intravaskulärem Ultraschall (IVUS)
- 3.4 Abstoßungsreaktionen
- 3.5 Infektionen
 - 3.5.1 Gesamtanzahl der Infektionen
 - 3.5.2 Bakterielle Infektionen
 - 3.5.3 Fungale Infektionen
 - 3.5.4 Virale Infektionen
 - 3.5.5 Die CMV-Infektion
- 3.6 Die medikamentöse Therapie im Kollektiv

- 4. Diskussion: Graft Vessel Disease – Die schwerwiegendste Komplikation im Langzeitverlauf nach Herztransplantation
 - 4.1 Transplantatvaskulopathie – Entstehung / Pathogenese
 - 4.1.1 Pathologische Eigenschaften
 - 4.1.2 Pathophysiologie
 - 4.1.3 Risikofaktoren
 - 4.1.3.1 Metabolische Risikofaktoren
 - 4.1.3.2 Spenderalter und Spendergeschlecht
 - 4.1.3.3 Cytomegalievirusinfektion
 - 4.1.3.4 Ischämie und Reperfusion
 - 4.1.3.5 Abstoßungsreaktionen
 - 4.1.3.5.1 Immunsuppression
 - 4.1.3.5.2 Induktionstherapie
 - 4.1.3.5.3 Cyclosporin A (Sandimmun®)
 - 4.1.3.5.4 Tacrolimus (FK 506, Prograf®)
 - 4.1.3.5.5 Mycophenolat Mofetil (CellCept®)
 - 4.1.3.5.6 Rapamycin (Sirolimus, Rapamune®)
 - 4.1.3.6 Transforming Growth Factor β 1 (TGF- β)
 - 4.1.3.7 Antithrombin III
 - 4.2 Diagnosestellung
 - 4.2.1 Nichtinvasive Screeningmethoden
 - 4.2.2 Koronarangiographie
 - 4.2.3 Intrakoronarer Ultraschall
 - 4.2.4 Epikardiale Endothelfunktion
 - 4.2.5 Intrakoronare Doppleruntersuchung und koronare Mikrozirkulation
 - 4.2.6 Endomyokardiale Biopsie
 - 4.2.7 Prophylaxe und Therapie
 - 4.2.7.1 Immunsuppressive Medikation
 - 4.2.7.2 Konventionelle medikamentöse Therapieansätze
 - 4.2.7.3 Experimentelle Ansätze
 - 4.2.7.4 Koronarinterventionen
 - 4.2.7.5 Knochenmarktransplantation
 - 4.2.7.6 Retransplantation
 - 4.2.7.7 Antiproliferative Therapieansätze

- 4.3 Angiopeptin – ein Somatostatinanalogon
 - 4.3.1 Biochemie und chemische Strukturformel von Angiopeptin
 - 4.3.2 Pharmakologische Eigenschaften von Angiopeptin
 - 4.3.3 Wirkmechanismus von Angiopeptin
 - 4.3.3.1 Effekte auf Immunzellen
 - 4.3.3.2 Rezeptoren
 - 4.3.3.3 Signaltransduktion
 - 4.3.3.4 Beeinflussung der Zellmigration
 - 4.3.3.5 Einfluss auf die Endothelfunktion
 - 4.3.3.6 Adhäsion von Zellen
 - 4.3.3.7 Auswirkung auf Protoonkogene
 - 4.3.4 Experimenteller Einsatz von Angiopeptin
 - 4.3.4.1 Versuche am Kaninchen
 - 4.3.4.2 Versuche an der Ratte
 - 4.3.4.3 Versuche an der Maus
 - 4.3.5 Klinische Studien
 - 4.3.6 Vergleich der Ergebnisse aus Tiermodell und klinischem Einsatz

- 5. Zusammenfassung

- 6. Literaturverzeichnis

1. Einleitung

1.1 Indikationsstellung zur Herztransplantation

Die Indikation zur Herztransplantation wird gestellt, wenn das Risiko des Eingriffs sowie das Langzeitrisko nach Transplantation geringer bewertet werden als das individuell abgeschätzte Risiko der hochgradigen Herzinsuffizienz. Die Möglichkeiten eines koronarchirurgischen Eingriffs oder alternativer operativer Verfahren müssen sorgfältig geprüft werden.

Die Ein-Jahres-Überlebensrate der orthotopen Herztransplantation für den Zeitraum 1982 bis 1995 liegt gemäß dem internationalen Register bei 80 %, die Fünf-Jahres-Überlebensrate bei 63 %, die Zehn-Jahres-Überlebensrate bei 43 %. Die Ein-Jahres-Überlebensrate nach Transplantation in den Jahren 1993 bis 1995 wurde auf 84 % verbessert [142].

Im 18. offiziellen Report der „International Society for Heart and Lung Transplantation“ wurden folgende Schlussfolgerungen nach Herztransplantation (einschließlich bis zum 18. Mai 2001) wie folgt zusammengefasst:

Demnach wurden 57818 orthotope Herztransplantationen einschließlich des Jahres 2000 ins Register aufgenommen. Die Transplantationszahlen gehen in nicht US-Staaten weiterhin deutlicher zurück (2002 Herztransplantationen 1994, ca. 1000 Herztransplantationen im Jahr 2000) als in den Vereinigten Staaten selbst. Seit den beginnenden 90er Jahren wurde der Anteil der akzeptierten Spender über 50 Jahre von ca. 3 % auf ca. 10 % angehoben. Die Altersspanne der Empfänger liegt hauptsächlich in der Altersgruppe von 35-64 Jahren. Die Diagnosen, welche zur Transplantation führen, stellen zum größten Teil die Koronare Herzerkrankung und die Kardiomyopathie dar. In den frühen 80er Jahren stellte die Kardiomyopathie den Hauptanteil, sie wurde in den späten 80er Jahren und in den frühen 90er Jahren von der Koronaren Herzerkrankung durch die Lockerung der Altersgrenzen überflügelt. In den vergangenen 7 Jahren hielten sich beide Diagnosen die Waage. Die Ein-Jahresüberlebensrate wurde mit 80 % angegeben. Der Zeitraum, nach dem noch 50 % der Transplantierten am Leben waren, betrug 9,1 Jahre und konnte, wenn das erste Jahr nach Transplantation überlebt wurde, auf 11,6 Jahre gesteigert werden. Von Jahr 1 bis Jahr 14 betrug die jährliche Sterberate konstant ca. 4 % mit der Tendenz zur Verbesserung von Jahr 15-17. Den deutlichsten Sprung konnte man nach 1987 verbuchen. Zuvor lag die Ein-Jahresüberlebensrate unter 80 % und lediglich 60 % der Transplantierten überlebten das 5. Jahr nach Transplantation.

Wurde eine Retransplantation notwendig, so liegt das Überleben stetig zwischen 6 und 12 % unter der Überlebensrate nach primärer Herztransplantation.

Die Mehrheit aller transplantierten Patienten zeigen keine sich verschlechternde Organfunktion; dennoch stehen lediglich 40 % nach 5 Jahren in einem Beschäftigungsverhältnis. Die Inzidenz von nötigen Aufenthalten in Krankenhäusern ging in den letzten Jahren weiter zurück, lag aber im Zeitraum 3 bis 5 Jahre nach Transplantation immer noch leicht über 20 %.

Als Hauptkomplikationen werden nach orthotoper Herztransplantation im Kurzzeitverlauf die akute Abstoßung (ISHLT Grad I-IV), im Langzeitverlauf die Transplantatvaskulopathie und maligne Erkrankungen angegeben, welche beide im Langzeitverlauf zunehmen, neben Bluthochdruck, ansteigenden Retentionswerten, Hyperlipidämie und Diabetes mellitus. Die Transplantatvaskulopathie entwickelt sich vor allem bei zugrundeliegender Koronarer Herzkrankheit beim Empfänger und fortschreitendem Spenderalter

(bei einem Spenderalter > 60 Jahre zeigte sich ein Rückgang der Ejektionsfraktion im Zeitraum 1 Jahres um 5 %, in allen anderen Altersbereichen war dies nicht zu beobachten).

Als protektiv gegenüber einer Transplantatvaskulopathie werden Organe von weiblichen Spendern und von Spendern < 20 Jahren angegeben. Bei den malignen Erkrankungen stehen Tumoren der Haut (37,3 % nach 1 Jahr und 52,1 % nach 5 Jahren) und des Lymphsystems (29,0 % nach 1 Jahr und 12,5 % nach 5 Jahren) im Vordergrund.

Das primäre Graftversagen dominiert die Mortalität im ersten Jahr nach Transplantation gefolgt von Transplantatvaskulopathie, unspezifischem Graftversagen und malignen Erkrankungen im Langzeitverlauf.

Risikofaktoren für die Mortalität wurden mit der Odds Ratio angegeben. Dabei bedeutet ein Wert von 1,0 einen Risikofaktor von 0, Werte < 1,0 geben protektive Faktoren an und Werte > 1,0 markieren die Risikofaktoren mit einer erhöhten Mortalität.

Tabelle 1: Risikofaktoren für Mortalität

	Odds Ratio 1 Jahr nach Transplantation (n = 38943)	Odds Ratio 5 Jahre nach Transplantation (n = 26250)
Beatmungszeit auf ICU	2,45	1,65
Retransplantation	2,39	2,645
Spender weiblich – Empfänger männlich	1,18	1,12
Spender CMV-positiv bei CMV-negativem Empfänger	1,17	Nicht angegeben
Spenderalter > 35 Jahre	1,07	1,07
Spenderalter > 50 Jahre	1,4	1,38
Spenderalter > 65 Jahre	1,81	1,77
Vorliegen von 100 % panelreaktiven Antikörpern	1,97	1,53
Body Mass Index von 33 bei Körpergröße 150 cm	1,77	1,57
Body Mass Index von 33 bei Körpergröße 175 cm	1,29	1,19
Ischämiezeit > 3 Stunden	1,02	1,01
Ischämiezeit > 5 Stunden	1,24	1,14

Ähnlich wie in der Transplantation bei adulten Patienten gingen die an pädiatrischen Patienten (0-18 Jahre) zurück von 386 im Jahre 1993 auf 347 im Jahr 2000. Die vornehmlichste Diagnose hier die kongenitale Kardiomyopathie dar, welche in der Altersgruppe bis zu einem Jahr nahezu 75 % und knapp 30 % bei den älteren und Jugendlichen für die Notwendigkeit einer Herztransplantation verantwortlich war. Die Überlebensrate gleicht bei Kindern und Jugendlichen den der Erwachsenen, lediglich bei Säuglingen < 1 Jahr liegt die 1-Jahresüberlebensrate niedriger (70 % im Zeitraum zwischen 1982 und 2000). Bei der Auswahl der Organangebote für Kinder zeigt sich der protektive Faktor der Größenverhältnisse. Je größer der Spender relativ zum Empfänger ist, desto besser das Outcome. Darüber hinaus spielt das Spenderalter bis in die 3. Dekade keine Rolle [140].

In einer noch laufenden unizentrischen Studie der Herzchirurgischen Klinik des Klinikum Großhadern der Universität München zur Prüfung der Wirksamkeit der Immunsuppression mit kombinierter Gabe von Sirolimus (Rapamune®), FK 506 (Prograf®) und Kortison belief sich die Ein-Jahres-Überlebensrate auf 100 % nach einem Follow up von 2 Jahren[278].

Im Jahr 2003 wurden in Deutschland 374 (395 im Jahr 2002, 394 im Jahr 2001) orthotope Herztransplantationen durchgeführt, am 31.12.2003 befanden sich 473 (359 im Jahr 2002, 347 im Jahr 2001) Empfänger auf den deutschen Wartelisten. Somit setzte sich in Deutschland wie in Europa der Trend mit rückläufigen Transplantationszahlen weiter fort [287].

Die Indikation zur Transplantation muss folglich bei vorliegender Organknappheit und dem Problem der Wartezeiten (derzeit 12-18 Monate auf der elektiven Liste) sehr eng und nach objektiv festgelegten Kriterien gestellt und im Verlauf der Wartezeit regelmäßig überprüft werden.

Als Indikation wird die therapierefraktäre NYHA-4-Herzinsuffizienz ohne längerfristige Stabilisierbarkeit angesehen. Bei rekompensierbaren NYHA-4-Stadien sowie stabilen NYHA-3-Stadien ist die Indikation zur Transplantation dann gegeben, wenn eine prognostisch ungünstige Konstellation vorliegt. Als Prognoseparameter werden klinische, hämodynamische, funktionelle, neurohumorale sowie rhythmologische Informationen verwendet [75]. Aussagen zur Prognose sollten jedoch erst gestellt werden, wenn sich der Patient unter einer nach hämodynamischen Kriterien optimierten medikamentösen Therapie befindet.

Tabelle 2: Normwerte für hämodynamische und laborchemische Parameter

Parameter	Normwert
Linksventrikuläre Auswurfraction (%)	60-70
Herzindex (l/min/m ²)	3,5±0,5
Pulmonalkapillärer Mitteldruck (mmHg)	<15
Enddiastolischer Durchmesser (mm)	<60
Maximale Sauerstoffaufnahme (ml/kg/min)	>18
Serumnatrium (mmol/l)	135-145mmol/l
Noradrenalinplasm Spiegel (pg/ml)	<800
Endothelin (pg/ml)	1-3
Atriales Natriuretisches Peptid (pg/ml)	20-30
Tumornekrosefaktor α (pg/ml)	15-20

Als ungünstige hämodynamische Prädiktoren gelten unter anderem eine linksventrikuläre Auswurfraction < 20 bis 25 %, ein Herzindex < 2,0 l/min/m², ein Pulmonalkapillärer Mitteldruck > 20 mm Hg und ein enddiastolischer Durchmesser > 80mm [75].

Als wichtigster Parameter gilt die maximale Sauerstoffaufnahme. Hier gilt als prognostisch sehr ungünstig ein Wert < 10 ml/kg/min oder weniger als 50 % des Alterssoll [226, 370].

Neurohumorale Parameter umfassen eine Hyponatriämie < 134 mmol/l, erhöhte Noradrenalinplasm Spiegel > 800-1000 pg/ml, Endothelin, atriales natriuretische Peptid und den Tumornekrosefaktor α .

Als ungünstige rhythmologische Prädiktoren gelten ein überlebter Kreislaufstillstand und ventrikuläre Tachykardien, darunter sowohl anhaltende als auch nicht andauernde [158, 162, 181].

Alle genannten Risikofaktoren beeinflussen die Prognose umso negativer, je weiter sie im ungünstigen Bereich liegen. Das individuelle Risiko für den Patienten lässt sich heute immer noch schwer abschätzen wegen einer bislang fehlenden Risikoprädiktion des plötzlichen Herztodes [253].

Die linksventrikuläre Auswurffraktion ist als alleiniges Kriterium für die Transplantation folglich nicht mehr geeignet [75, 370]. Große Bedeutung als Einzelparameter besitzt jedoch die maximale Sauerstoffaufnahme [226, 370]. Von fehlender Dringlichkeit zur Transplantation bei höhergradiger Herzinsuffizienz kann bei folgender Konstellation ausgegangen werden: maximale Sauerstoffaufnahme $> 14-18 \text{ ml/kg/min}$ bzw. $> 60\%$ des Alterssollwert, Herzindex $> 2,0 \text{ l/min/m}^2$ und maximale Sauerstoffaufnahme $> 12 \text{ ml/kg/min}$, Reversibilität hämodynamischer Parameter unter optimierter medikamentöser Therapie, Zunahme der maximalen Sauerstoffaufnahme im Verlauf um 2 ml/kg/min sowie längerfristig fehlende klinische Dekompensation [370, 162, 369].

Entscheidende Bedeutung bei der absoluten und relativen Kontraindikation kommt der Messung des Lungengefäßwiderstandes zu. Bei einem Lungengefäßwiderstand > 5 bis 6 Wood-Einheiten ([Pulmonalkapillärer Mitteldruck PCM – Pulmonalarterieller Mitteldruck PAM] / Herzzeitvolumen HZV) ohne Abnahme auf < 3 bis 4 Wood-Einheiten unter intravenöser pharmakologischer Testung gilt eine orthotope Herztransplantation als kontraindiziert, wobei zur Testung Prostaglandinderivate wie Prostaglandin I_2 oder Prostaglandin E_2 oder inhalatives NO verwendet werden [75].

1.2 Spenderkriterien / Spendermanagement

Der Einsatz der Herztransplantation wird am gravierendsten durch das Fehlen der geeigneten Spender begrenzt.

Bei einer eventuellen Ausweitung der Akzeptanz hinsichtlich der Spender darf allerdings das Risiko des intra- und postoperativen Transplantatversagens nicht erhöht werden.

Die entsprechenden Kriterien sind in den letzten Jahren schrittweise erweitert worden:

Die Altersgrenze, früher bei 60 Jahren, wurde aufgehoben.

Eine kurzzeitige Reanimation wird ebenso toleriert wie die Gabe von geringen Mengen von Katecholaminen zur Kreislaufstabilisation.

Auch eine lokal begrenzte Infektion, wie z.B. eine Pneumonie stellt heute keine Kontraindikation mehr für die Spende eines Herzens dar.

Untersuchungen, um beim Spender mögliche Vorschädigungen zu erkennen, rücken damit letztlich in den Vordergrund. Dazu gehören neben Anamnese und EKG auch die Echokardiographie zur Verifizierung einer normalen Herzfunktion. Da die bei älteren Patienten gewünschte Angiographie oft nicht möglich ist, muss auf die genaue Begutachtung der Koronarien vor Explantation durch den Chirurgen Wert gelegt werden.

Die optimale Stabilisierung des Spenders bis zur Explantation durch die moderne Intensivmedizin stellt eine weitere Voraussetzung für eine gute Transplantatfunktion dar.

Viele Spender mit Schädeltraumen entwickeln einen Diabetes insipidus, der zur Hyponatriämie und Hypokaliämie führt. Bei diesen Patienten muss die Elektrolyt- und Flüssigkeitsbilanz unter Berücksichtigung des zentralvenösen Drucks ausgeglichen werden und die exzessive Gabe von positiv inotropen Substanzen vermieden werden.

Weiterhin kann es durch zentrale Thermodyregulation zur Hypothermie und durch Dilution ab einem Hämatokrit $< 20\%$ zur Anämie kommen. Geeignete Wärmeisolierung und Bluttransfusionen sollten folglich ins Auge gefasst werden.

Druckkontrollierte Beatmungsformen können neurogen bedingte Lungenödeme, Aspirationspneumonien oder Lungenkontusionen nach sich ziehen.

Hormonelle Störungen treten infolge des Hirntodes auf. Besonders der Verlust von Trijodthyronin T_3 , Cortisol und Insulin führt zu einer Abnahme des myokardialen energiereichen Phosphates und Glykogens, einem Anstieg von Lactat und einer daraus resultierenden Abnahme der myokardialen Funktion. Bei Spendern mit entsprechenden Anzeichen sollte deshalb die Substitution von T_3 angestrebt werden [253].

1.3 Perfusionslösungen

In der Anfangsphase der Herztransplantation wurden in den jeweiligen Kliniken herkömmliche kardioplegische Lösungen verwendet. Vor allem die Verlängerung der Ischämiezeiten führte zur Entwicklung spezieller Lösungen, die optimierte Bedingungen für die Toleranz einer längeren Ischämiephase sowie für die initiale Reperfusion schaffen [253].

An der Ludwig-Maximilians-Universität München in der Herzchirurgischen Klinik des Klinikums Großhadern wurde bei einem Vergleich der Effizienzen von Bretschneider-Lösung und der University-of-Wisconsin-Lösung (UW) herausgefunden, dass bei Ischämiezeiten von größer vier Stunden bei letzterer die Inzidenz von primären Organversagen deutlich reduziert werden konnte [318].

Im Tierexperiment wurden mit diesen Perfusionslösungen Ischämiezeiten von bis zu 12 Stunden toleriert; ein Problem liegt jedoch in der deutlichen Hyperkaliämie (140mmol/l) nach intrazellulärem Elektrolytmuster [144].

Nach einer Hypothese von Collins bewirkt eine intrazelluläre Elektrolytmusterzusammensetzung die Reduktion energieverbrauchender Transportprozesse und wirkt der hypothermieinduzierten Zellschwellung entgegen. Extrazelluläre Elektrolytzusammensetzungen sollen eine effektive Membrandepolarisation und somit elektromechanische Inaktivierung erreichen. Dies ist schon bei Kaliumkonzentrationen um 15 mmol/l möglich. Die extreme Hyperkaliämie beinhaltet den Nachteil der Temperaturabhängigkeit und der Endothelzellschädigung mit Störung der koronaren Vasodilatation [300].

Eine klinische Studie der UCLA geht von einer erhöhten Inzidenz von Transplantatvaskulopathie bei Verwendung von UW-Lösung (22 % nach 24 Monaten) im Vergleich zur Stanford-Lösung (14 % nach 24 Monaten) [81].

Seit Juni 1996 wird in Großhadern die Lösung Celsior mit einer Kaliumkonzentration von 15 mmol/l nach extrazellulärem Elektrolytmuster verwendet. Impermeable Substanzen wie Lactobionat oder Mannitol sollen die Entstehung eines Zellödems verhindern. Als Protektion gegen O_2 -Radikalbildung bei Reperfusion wird reduziertes Glutathion eingesetzt [258]. Glutamat dient als metabolisches Substrat, da es auch unter anaeroben Bedingungen verstoffwechselt wird. Histidin bewirkt eine effektive Pufferung [253].

1.4 Operationstechnik

Unverändert wird die Ende der sechziger Jahre von Lower und Shumway entwickelte Technik der orthotopen Herztransplantation angewendet. Hierbei werden die herzzuführenden Gefäße mit einer Manschette des jeweiligen Empfängervorhofes mit dem Spenderherzen verbunden. Durch die Veränderung der Vorhöfe hinsichtlich Größe und Geometrie kann es jedoch in Einzelfällen zu Trikuspidal- und Mitralinsuffizienzen, Thromboembolien und Rhythmusstörungen kommen [253]. Aus diesem Grund entwickelten 1991 Dreyfus et al. eine Technik, bei der pulmonale und systemische Venen (Vena cava superior) direkt anastomosiert werden [80].

Diese beiden Verfahren werden in Deutschland wie in Europa je nach Zentrum und nach Operateur und der zugrundeliegenden Erfahrung eingesetzt.

1.5 Denervation - Reinnervation

Als Folgen der afferenten Denervation nach Transplantation fehlen der Angina-Pectoris Schmerz und die Augmentation der arteriellen Hypertonie durch Cyclosporin durch Verlust der cholinergen Reflexdilatation [336].

Durch die efferente Denervation kommt es zu einem Verlust des tonisch inhibierenden parasympathischen Einflusses auf den Sinusknoten und damit zur Ruhetachykardie. Die Kontraktilität des linken Ventrikels bleibt unabhängig von sympathischer Innervation gleich [340].

Durch die Unfähigkeit, Katecholamine wieder aufzunehmen, kann es zu einer präsynaptischen chronotropen und inotropen Supersensitivität gegenüber endogenen Katecholaminen kommen [336], die aber mit der Zeit wieder abnimmt [183].

Ebenso lässt sich eine negativ chronotrope und inotrope Überempfindlichkeit gegenüber parasympathischer Stimulation nachweisen [184]. Dennoch weisen Herztransplantierte unter körperlicher Belastung geringere maximale Frequenzen, Herzzeitvolumina und Sauerstoffaufnahme auf, so dass die körperliche Leistungsfähigkeit im Vergleich zum Nicht-Transplantierten bei 60-80 % liegt [344]. Die maximale Sauerstoffaufnahme kann durch sympathische Reinnervation wieder deutlich erhöht werden [394]. Vorwiegend sind von dieser ventrikulären sympathischen Reinnervation Septum- und Vorderwandareale betroffen [253].

Im Bereich der Vorhöfe kann es sogar zu einer sympathischen wie parasympathischen Reinnervation [101] kommen.

2001 konnten Bengel FM und Mitarbeiter die wichtige Funktion der Reinnervation nachweisen. Sie untersuchten 29 Patienten nach Herztransplantation mittels Positronen-Emissions-Tomographie und dem Katecholaminanalog ¹¹C-Hydroxyepinephrin. Die Kontrollgruppe bestand aus 10 gesunden Freiwilligen. Sie konnten bei 16 von 29 Transplantierten eine sympathische Reinnervation, meist in anteroseptalen Wandarealen nachweisen. In körperlicher Ruhe wurden keine hämodynamischen Unterschiede festgestellt. In der Gruppe ohne nachweisliche Reinnervation zeigte sich eine verminderte körperliche Belastbarkeit (Exercise time $6,1 \pm 1,5$ Minuten gegenüber $8,2 \pm 1,2$ Minuten in der Gruppe mit Reinnervation, $p < 0,01$). Ebenso erreichten die Patienten mit Reinnervation eine höhere maximale Herzfrequenz bei Belastung (143 ± 15 Schläge / min, gegenüber 121 ± 13 , $p < 0,01$) und eine bessere Kontraktilitätszunahme bei körperlicher Anstrengung [36].

1.6 Langzeitverlauf

Im Langzeitverlauf nach orthotoper Transplantation kommt es in der Regel zu keiner Form der Posttransplantatkardiomyopathie. Die systolische Funktion des transplantierten Organs bleibt unverändert bei normaler Auswurfraction, so dass die systolische Dysfunktion in großen Kollektiven bei ca. 5-10 % lag [343, 395].

Die Diastole zeichnete sich jedoch durch eine leicht erhöhte Kammersteifigkeit bedingt durch eine linksventrikuläre Hypertrophie im Rahmen der cyclosporin- und denervationsinduzierten arteriellen Hypertonie aus. Folglich kann die Lebensqualität nach Transplantation mit der Normalbevölkerung verglichen werden [437].

Wie noch dargelegt wird stellt die Transplantatvaskulopathie die Hauptkomplikation nach Herztransplantation dar.

2. Patientenkollektiv und Methoden

2.1 Patientenkollektiv und Randomisierung

2.1.1 Einschlusskriterien

1. Volljährige Patienten
2. Freiwillige und schriftliche Zustimmung
3. Primäre orthotope Herztransplantation
4. Eventuelle vorliegende pulmonale Hypertonie ≤ 4 Wood-Einheiten

2.1.2 Ausschlusskriterien

1. Frauen im gebärfähigen Alter (jünger als 45 Jahre) ohne hormonelle Kontrazeption
2. Patienten mit klinisch fassbaren Leber- (Serum-GOT $> 1,5$ mal des oberen Referenzwertes, Normalwert 7 - 27 U/l) oder Nierenerkrankungen (Kreatininwert $> 2,0$ mg/dl)
3. Vorhandensein bekannter Überempfindlichkeit gegenüber Angiopeptin oder ähnlichen Medikamenten
4. Weigerung des Patienten, an der Studie teilzunehmen oder zu Kontrolluntersuchungen nach Transplantation zu erscheinen

2.1.3 Randomisierung der Patienten

Insgesamt wurden 36 Patienten in die Studie aufgenommen. Sie wurden bei Eintritt ins Krankenhaus zur Transplantation und Zustimmung nach folgenden zum Zeitpunkt des Studienbeginns für eine eventuell auftretende Transplantatvaskulopathie wichtigen Kriterien randomisiert:

1. Hypercholesterinämie des Empfängers > 240 mg/dl
2. Positive CMV-Antikörper beim Empfänger
3. Spenderalter > 40 Jahre

2.2 Methoden

2.2.1 Studienziel

Die Studie soll die Auswirkung von Angiopeptin auf eine mögliche Transplantatvaskulopathie nach orthotoper Herztransplantation am Menschen aufklären.

2.2.2 Studiendesign

In einer prospektiven randomisierten und doppel-blinden Studie wurde die Inzidenz der Transplantatvaskulopathie (GVD) nach orthotoper Herztransplantation bei Patienten mit Angiopeptin-Therapie (Angiopeptingruppe) oder Placebo-Therapie (Placebogruppe) untersucht. Die Studie wurde überprüft und kontrolliert vom ansässigen Ethikkommittee des Lehrstuhls Medizin der Ludwig-Maximilians-Universität München, in Übereinstimmung mit den „European Good Clinical Practice Guidelines“ und der „Deklaration von Helsinki“ durchgeführt.

2.2.3 Studiendauer

Die Studie wurde auf eine Dauer von 4 Jahren festgesetzt.

2.2.4 Vorzeitige Beendigung der Studie

Die Ethikkommission konnte eine vorzeitige Beendigung der Studie nach eigenem Ermessen vorschlagen. Das Team der verantwortlichen Ärzte hätte in diesem Fall über die Beendigung zu entscheiden gehabt und stellte die einzige Instanz dar, die autorisiert war, die Studie vorzeitig zu stoppen.

Bei einem vorzeitigen Stop wären die behandelnden Ärzte über den Abbruch sowie über den genauen Grund und die tatsächliche Behandlungsform der Patienten (Medikament oder Placebo) informiert worden.

2.2.5 Teilnehmende Institutionen

Kliniken

- Herzchirurgische Klinik, Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität München, Deutschland
- Medizinische Klinik I, Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität München, Deutschland
- Städtisches Klinikum Augsburg, Abteilung für Kardiologie, München, Deutschland
- Medizinische Klinik Innenstadt, Ludwig-Maximilians-Universität München, Deutschland
- Klinik für Klinische Chemie, Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität München, Deutschland

Ethikkommission

Die Ethikkommission stellte sich aus unabhängigen Experten des Klinikums und aus der vorher beschriebenen Studienmannschaft zusammen.

2.2.6 Medikation

Angioeptin und das Placebopräparat wurden vom Hersteller zur Verfügung gestellt.

Placebo

Das Placebopräparat (28 mg Mannitol) wurde in Kanülen bereitgestellt, welche in Farbe, Löslichkeit und Aussehen mit dem Originalpräparat identisch waren. Jede Kanüle wurde in 0,5 ml steriler isotoner Natriumchloridlösung gelöst.

Studienmedikament

Angioeptin wurde als weißes Pulver in Kanülen mit 3 mg Wirkstoff und 25 mg Mannitol verabreicht. Jede Kanüle wurde in 0,5 ml steriler isotoner Natriumchloridlösung gelöst.

Behandlungsprotokoll

- a) Behandlung vor der Operation: Unmittelbar vor der Herztransplantation erhielt jeder Patient 1,5 mg der Studienmedikation durch subkutane Injektion.
- b) Behandlung während der Operation: 1,5 mg wurden durch den Anästhesisten unmittelbar vor Lösen der Aortenklemme und Beginn der Reperfusion des transplantierten Herzens intravenös verabreicht. Darüber hinaus wurden jedem Liter der kardioplegischen Lösung (HTK-Bretschneider-Lösung) weitere 1,5 mg während der Explantation zugefügt.
- c) Behandlung nach der Operation: Auf der Intensivstation erhielt jeder Empfänger mittels Perfusor eine kontinuierliche Infusion von 3 mg Studienmedikation gelöst in 50 ml isotoner Natriumchloridlösung über einen Zeitraum von 6 Stunden. Von Tag 2 bis Tag 14 nach Herztransplantation wurden jedem Patienten am Morgen und am Abend jeweils 1,5 mg subkutan injiziert.
- d) Behandlung bei Abstoßungsreaktionen: Die Behandlung von Abstoßungsreaktionen nach den ersten 14 Tagen nach Transplantation beinhaltete die Gabe von täglich zwei Injektionen von je 1,5 mg subkutan über den Zeitraum von 3 Tagen. Diese zusätzliche Verabreichung wurde in den ersten 12 Monaten nach Transplantation beibehalten.
- e) Protokoll für die Placebogruppe: Patienten, welche das Placebopräparat erhielten, wurden nach dem gleichen Schema wie die Empfänger behandelt, die mit Angioeptin versorgt wurden.

Immunsuppression

Alle Patienten wurden mit einer Dreierkombination aus Cyclosporin, Prednisolon und Azathioprin behandelt.

Cyclosporin wurde in einer Dosierung von 2-5 mg/kg/d verabreicht mit dem Ziel, in der Frühphase eine Serumkonzentration von 200-300 ng/ml und in der späteren Phase nach Transplantation von 100-200 ng/ml zu gewährleisten (Bestimmung durch monoklonales Radioimmunassay der Firma Behring).

Bei Prednisolon wurde mit 1 mg/kg/d begonnen und in einem Zeitraum von 3 Monaten auf eine Zieldosis von 0,1 mg/kg/d reduziert.

Bei Azathioprin wurde eine Zieldosis von 0-2 mg/kg/d verabreicht, um Leukozytenzahl von 5000-8000 Zellen pro mm³ sicherzustellen.

Intraoperativ wurden zusätzlich 500 mg Methylprednisolon verabreicht, gefolgt von 125 mg in den ersten 24 Stunden nach Transplantation.

Bis therapeutische Cyclosporinkonzentrationen erreicht waren, wurde als Induktionstherapie ATG (3-5 mg/kg/d, angestrebte Anzahl von T-Zellen < 150 Zellen/mm³) verabreicht.

2.2.7 Diagnostik vor und nach Transplantation

Klinische und angiographische Kontrolluntersuchungen

Vor dem Eingriff wurde jeder Studienpatient einer genauen Anamnese unterzogen und mit besonderem Augenmerk untersucht auf Risikofaktoren, die eine Arteriosklerose hervorgerufen haben könnten. Die Ergebnisse wurden in hierfür vorgesehene Formulare, sogenannte Case Report Forms (CRF) eingetragen.

Ein Elektrokardiogramm und ein Belastungs-EKG wurden postoperativ, wenn nicht kontraindiziert, und regelmäßig im Abstand von sechs Monaten durchgeführt.

Als Baseline diente eine Koronarangiographie in den ersten 4 Wochen nach Transplantation. Die Herzkatheteruntersuchung wurde in den folgenden vier Jahren jährlich wiederholt oder früher durchgeführt, wenn durch pathologische Befunde aus der letzten Angiographie, durch die klinische Symptomatik oder durch Befunde aus den Belastungselektrokardiogrammen indiziert.

Aufgrund einem von der Ethikkommission genehmigten Zusatz zum ursprünglichen Studienprotokoll wurden alle Studienpatienten (n=27) außer vier einer Intrakoronaren Ultraschalluntersuchung (ICUS, IVUS) nach einer durchschnittlichen Follow-up-Zeit von $33,5 \pm 5,2$ Monaten nach Herztransplantation unterzogen (n=23).

Zwei Patienten aus der Verumgruppe gaben nicht ihre Zustimmung zur Untersuchung.

In der Kontrollgruppe konnte bei einem Patienten der Intrakoronare Ultraschall aufgrund einer signifikanten Stenose der infrarenalen Aorta nicht durchgeführt werden (die Stenose konnte mit dem Katheterdraht 7F nicht passiert werden, ohne den Patienten zu gefährden). Der zweite Patient in der Placebogruppe verstarb an einem Myokardinfarkt, bevor die Untersuchung stattfinden konnte.

Der Intrakoronare Ultraschall wurde nach der diagnostischen Angiographie mit einem 30 MHz Ultraschallkatheter (Endosonics Corp.- Boston Scientific Corp. und Hewlett Packard Sonos 1000) durchgeführt. Untersucht wurde die linke Koronararterie. Die Auswahl des zu untersuchenden Gefäßes (entweder Ramus interventricularis anterior oder Ramus circumflexus) fand nach Schwierigkeit des Zugangs zum Gefäß, Gefäßdurchmesser und Grad der Schlingelung im zu untersuchenden Abschnitt statt. Die Position des Schallkopfes wurde durch wiederholte Infusion eines Kontrastmittels verifiziert. Die drei am meisten in Mitleidenschaft gezogenen Abschnitte wurden für eine weitere Analyse ausgewählt. Lediglich Blickwinkel mit zentraler Katheterposition und optimaler Darstellung der Gefäßwand wurden analysiert.

Sowohl die Ergebnisse aus den Koronarangiographien als auch die der Intrakoronaren Ultraschalluntersuchung wurden von einem unabhängigen Kardiologen vor Offenlegung des Studiencodes befundet.

Die Angiographien wurden hinsichtlich der Inzidenz einer Graft Vessel Disease zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung und zu den Zeitpunkten 2 und 4 Jahre nach Transplantation befundet. Darüber hinaus folgte eine Unterteilung im Maß der Ausprägung.

1. Keine Anzeichen für eine Graft Vessel Disease vorhanden
2. Wandunregelmäßigkeiten (< 30 % Stenosierung des Gefäßlumens)
3. Geringe Stenosierung (30-50 %)
4. Mäßige Stenosierung (50-75 %)
5. Schwere Stenosierung (75-99 %)
6. Gefäßverschluss

Die aus der Ultraschalluntersuchung gewonnenen Bilder wurden digitalisiert und auf eine 640 x 480 Pixel-Matrix übertragen (RasterOps®). Die quantitative Ausprägung erfolgte mit einer konventionellen Software (Image 1.40; Quadra 950, Apple-Macintosh) und enthielt Aussagen über durchschnittliche und maximale Dicke der Intima, Durchmesser von Intima, Lumen und des gesamten Gefäßes sowie über den Intimaindex (Intimadicke : [Intimadicke + Gefäßlumen]).

Für jede Messung konnte der Durchschnitt aus den drei am deutlichsten in Mitleidenschaft gezogenen Gefäßabschnitten errechnet werden. Wurden kein oder lediglich ein oder zwei Abschnitte mit pathologischer Intimaproliferation vorgefunden, berechneten sich die Ergebnisse aus 3, 2 oder 1 nicht pathologisch veränderten Abschnitten.

Zur Auswertung der Quantität der GVD diente ein modifiziertes Stanford-Grading-System [238, 113], basierend auf der Zunahme der Intimadicke und des radialen Ausmaßes der Intimahyperplasie (angegeben in Winkelgraden von maximal 360°):

- | | |
|-----------|--|
| Grad I: | Keine Hyperplasie der Intima feststellbar |
| Grad II: | Intimadicke < 0,3 mm, < 180° |
| Grad III: | Intimadicke < 0,3 mm, > 180° |
| Grad IV: | Intimadicke 0,3 – 0,5 mm, < 180° |
| Grad V: | Intimadicke 0,3 – 0,5 mm, > 180° |
| Grad VI: | Intimadicke > 0,5 mm, > 180° oder > 1,0 mm |

Evaluation klinischer Parameter und Sicherheit

Routinemäßige Endomyokardbiopsien erfolgten nach 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 und 12 Wochen und nach 4, 5, 6, 9 und 12 Monaten oder immer bei klinischem Verdacht auf eine Abstoßungsreaktion. Nach diesem Zeitraum folgten Biopsien einmal jährlich. Darüber hinaus wurden ein zytoimmunologisches Monitoring, die Echokardiographie, nötige Röntgenuntersuchungen und die klinische Beurteilung jeweils bei Kontrolluntersuchungen beim Patienten erhoben.

Weiterhin wurde der Sicherheit Sorge getragen durch kontinuierliche Dokumentation von „Adverse Events“ und signifikanten Veränderungen von Laborparametern.

Laborstudie

Folgende Blutparameter wurden vor der Operation, während des Krankenhausaufenthalts und bei jeder nachfolgenden Kontrolluntersuchung ausgewertet:

1. Hämatologie: Leukozyten, Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, Thrombozyten, Neutrophile, Lymphozyten, Monozyten, Eosinophile, Basophile.
2. Serologie: Natrium, Kalium, Harnstoff, Kreatinin, Kalzium, Albumin, alkalische Phosphatase, Bilirubin, Cholesterin, Triglyceride, Very Low Density Lipoprotein, Low Density Lipoprotein, High Density Lipoprotein, Apoprotein A, Apoprotein B, Lipoprotein α , Glutamat-Oxalat-Transaminase, Glucose, Fibrinogen.

2.2.8 Ethische Gesichtspunkte

Bevor ein Patient in die Studie aufgenommen wurde, musste er über alle Details hinsichtlich Sinn und Natur der Studie vom Untersucher aufgeklärt werden. Dem Patienten wurde ebenfalls mitgeteilt, dass die Teilnahme freiwillig war und ein Rücktritt während der Studie jederzeit möglich war.

2.2.9 Besondere Anmerkungen

Aufbewahrung des Medikamentes

Das Medikament wurde an gekühlter und sicherer Stelle aufbewahrt. Ungebrauchtes wurde dem Hersteller zurückgeschickt und nicht einer dritten Person überlassen.

Adverse Events

Ungewöhnliche klinische Zeichen, vom Patienten berichtet oder vom zuständigen Arzt diagnostiziert, wurden in eigens dafür vorhandene Case Report Forms eingetragen. Das zeitliche Ausmaß und die genaue Diagnose des oder der Befunde wurden hinzugefügt. Bestand der Verdacht, dass Angiopeptin für einen solchen Befund verantwortlich sein könnte, wurden wiederholte Untersuchungen angestellt bis der Grund geklärt war oder wieder Normalwerte vorhanden waren.

Bei Zwischenfällen, die durch Angiopeptin verursacht sein sollten und bei Patienten, die aufgrund eines Adverse Events von der Studie ausgeschlossen werden mussten, hätte das Henri Beaufour Institute USA, Inc. innerhalb von 24 Stunden benachrichtigt werden müssen.

Drop outs

Die Patienten konnten zu jeder Zeit und nach eigenem Willen die Studie verlassen. Die Gründe hierfür sollten genau dokumentiert werden und eine abschließende klinische Untersuchung sollte erfolgen.

Geltende Gesetzesvorschriften

Die Studie und eventuell auftretende Folgen unterlagen dem derzeit geltenden Deutschen Recht [375].

Patientenkollektiv

Die Verteilung der an der Studie teilnehmenden Patienten erklärte sich durch das europaweit standardisierte Vorgehen bei Herztransplantationen (Tabelle 5). Sämtliche Transplantationszentren erhielten seitens Eurotransplant mit Zentrale in Leyden, Holland, ein empfangenorientiertes Organangebot via Telefax oder Telefon. Bei Akzeptierung dieses Angebotes für den jeweiligen Spender erfolgte die Randomisierung. Die letztendliche Entscheidung über Annahme des Organs traf jedoch der explantierende Chirurg bei Inspektion des Organs vor Ort. Folglich konnten vorerst akzeptierte Transplantate einer gründlichen chirurgischen Inspektion nicht standhalten und die Transplantation konnte bei bereits randomisiertem Empfänger nicht stattfinden.

2.2.9 Angewendete Statistische Verfahren

Unterschiede zwischen den beiden Behandlungsgruppen hinsichtlich der Diagnose Transplantatvaskulopathie wurden mit „Fisher`s Exact Test“ auf Basis des Chi-Quadrat-Test untersucht. Dieser Test ist ein Maß für den linearen Zusammenhang zwischen der Zeilen- und Spaltenvariable einer Kreuztabelle bei geringen Fallzahlen.

Es werden die Randsummen der Vierfeldertafel als gegeben angesehen und nach der Wahrscheinlichkeit dafür gefragt, dass die beobachtete Besetzung der Tafel eine weniger wahrscheinliche (einseitige Fragestellung) oder sowohl weniger als auch häufiger wahrscheinliche (zweiseitige Fragestellung) rein zufällig zustande kommt.

Die Wahrscheinlichkeit P ergibt sich als eine Summe von Gliedern der hypergeometrischen Verteilung [219]:

$$P = \{ [(a+b)! (c+d)! (a+c)! (b+d)!] : n \} \{ \sum [1 : (a! b! c! d!)] \}$$

A	B	(a+b)
C	D	(c+d)
(a+c)	(b+d)	N

Das Überleben wurde mit „Kaplan-Meier-Kurven“ dargestellt und der Unterschied im Überleben mit dem „Wilcoxon-Test“ auf statistische Signifikanz untersucht.

Darüber hinaus wurde die Ausprägung der GVD (gemessen durch intravaskulären Ultraschall), sowie die Inzidenz der aufgetretenen Abstoßungen, der Infektionen und verabreichten Menge an Cyclosporin A ebenfalls mit dem „Wilcoxon Test“ untersucht.

Der Wilcoxon-Test stellt einen nichtparametrischen Test für zwei verbundene Variablen zur Überprüfung der Hypothese dar, dass beide Variablen dieselbe Verteilung haben. Dabei werden keine Annahmen über die Form der Verteilung der beiden Variablen gemacht. Dieses statistische Verfahren berücksichtigt Informationen über die Größe der Differenzen innerhalb von Paaren und gibt Paaren mit größeren Differenzen größeres Gewicht als Paaren mit kleineren Differenzen. Die Statistik beruht auf der Rangordnung der Absolutwerte der Differenzen zwischen den beiden Variablen.

Alle Daten werden als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben oder bei anderer Darstellung genau erklärt.

3. Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

Insgesamt wurden 36 Patienten bei Aufnahme ins Klinikum Großhadern zur Durchführung einer erstmaligen orthotopen Herztransplantation in die Studie aufgenommen und randomisiert. Die Daten werden in folgender Tabelle zusammengefasst:

Tabelle 5: Überblick über Patientenkollektiv

	Angiopeptingruppe	Placebogruppe
Patienten randomisiert (n)	17	19
Transplantate abgelehnt nach Inspektion (n)	4	1
Patienten transplantiert (n)	13	18
Evaluierte Patienten (Überlebenszeit > 1 Jahr) (n) *	11	16
Indikation für Transplantation:		
Ischämische Kardiomyopathie	5 = 45%	6 = 38%
Dilatative Kardiomyopathie	6 = 55%	10 = 62%
Spenderalter (Jahre)	31,6 ± 13,6	31,8 ± 10,3
Empfängeralter (Jahre)	48,6 ± 8,6	47,2 ± 11,3
Altersumfang Empfänger (Jahre)	31 – 62	25 – 64
Empfängergeschlecht (männlich / weiblich)	10 / 1	13 / 3
Randomisierungskriterien:		
Spenderalter > 40 Jahre	3 / 11 = 27%	4 / 16 = 25%
Hypercholesterinämie beim Empfänger präoperativ > 240 mg/dl	3 / 11 = 27%	4 / 16 = 25%
Positiver CMV-Status beim Empfänger	7 / 16 = 64%	10 / 16 = 63%
Ischämiezeit (min)	163 ± 63	164 ± 49
Follow-Up-Zeit (Tage)	1460 ± 0	1414 ± 161

* Zwei Patienten aus der Kontrollgruppe verstarben nach 818 und 1364 Tagen.

Die Randomisierung musste bereits während der Organisation der Transplantation erfolgen, da die Studienmedikation der Perfusionslösung im Transplantat beigefügt werden sollte. In insgesamt 5 Fällen (4 in der Verumgruppe und 1 in der Placebogruppe) wurde das potentielle Transplantat vom explantierenden Chirurg aufgrund zu schlechter kardialer Funktion oder deutlich sichtbarer Arteriosklerose abgelehnt. Die 5 Fälle wurden anschließend aus der Studie ausgeschlossen.

Die verbleibenden 31 Empfänger konnten einer Transplantation unterzogen werden (13 Patienten in der Verumgruppe, 18 Patienten in der Placebogruppe).

Weitere 4 Patienten (2 aus der Angiopeptingruppe und 2 aus der Placebogruppe) verstarben im ersten Jahr nach Transplantation was zu einer 1-Jahresüberlebensrate von 87 % führt. Als Todesursache wurde die akute Abstoßung (n=3; 97, 107 und 129 Tage nach Transplantation) und eine pulmonale Infektion (n=1; 72 Tage nach Transplantation) diagnostiziert. Keine der Todesursachen waren durch die Studienmedikation bedingt. Da diese Patienten im Follow-up mittels jährlicher Koronarangiographie nicht weiter untersucht werden konnten, wurden sie nachträglich aus der Studie ausgeschlossen.

Die veranschlagte Follow-up-Zeit von 4 Jahren galt für die restlichen 27 Patienten und wurde nur von 2 Patienten aus der Placebogruppe nicht erreicht: einer starb nach 818 Tagen an einem Myokardinfarkt und einer nach 1364 Tagen an den Folgen eines Blasenkarzinoms.

Der an dem Myokardinfarkt verstorbene Patient litt unter einer deutlich ausgeprägten Transplantatvaskulopathie und wird deshalb nach Rücksprache mit Statistikern der Ludwig-Maximilians-Universität in der Statistik als erkrankt geführt.

Basierend auf diesen Daten wurde eine 4-Jahresüberlebensrate in der Angiopeptingruppe (n=13) von 85 % und in der Placebogruppe (n=18) von 78 % erreicht.

Betrachtet man das Kollektiv hinsichtlich der Patienten, die einer Evaluation unterzogen werden konnten (Patienten, welche das erste Jahr post Transplantation überlebten), so ergibt sich eine 4-Jahresüberlebensrate in der Angiopeptingruppe (n=11) von 100 % und in der Placebogruppe (n=16) von 88 % (p = 0,23).

Tabelle 6: Überblick Evaluierungsdaten

	Angiopeptingruppe	Placebogruppe
Überlebensrate aller transplantierten Patienten	11 / 13 (85 %)	14 / 18 (78 %)
Überlebensrate der evaluierten Patienten (Überlebensrate > 1 Jahr)	11 / 11 (100 %)	14 / 16 (88 %)
Akute Abstoßungsepisoden pro Patient (n)	1,64 ± 1,2	1,81 ± 1,5
Diagnostizierte Infektionen pro Patient		
Bakteriell	1,36 ± 1,4	1,38 ± 1,3
Fungal	0,27 ± 0,5	0,31 ± 0,5
Viral	0,45 ± 0,7	0,5 ± 0,7

3.1.1 Demographie und Patienten-Charakteristika

Die demographischen Daten sowie andere Charakteristika der eingeschlossenen Patienten entsprachen in beiden Behandlungsgruppen einander und spiegelten die Verteilung der schweren Herzinsuffizienz in der allgemeinen Bevölkerung wieder.

Es bestand kein Unterschied hinsichtlich durchschnittlichem Spender- oder Empfängeralter, der Altersspanne beim Empfänger, der Geschlechtsverteilung oder der Ischämiezeit.

Die häufigste Indikation für die notwendige Herztransplantation stellte die dilatative Kardiomyopathie dar.

Weiterhin waren die Kriterien zur Randomisierung (Spenderalter > 40 Jahre, präoperative Cholesterinwerte beim Empfänger > 240 mg/dl und positiver CMV-Status beim Empfänger) gleichmäßig verteilt in den beiden Studiengruppen.

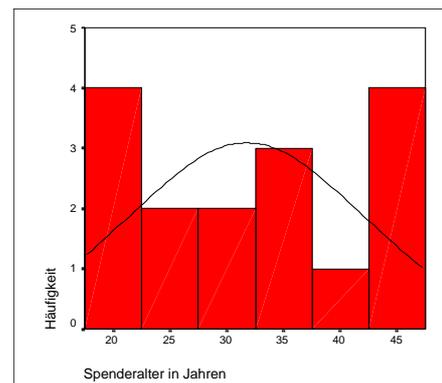
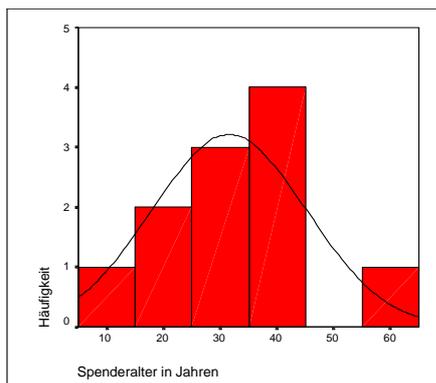
3.1.1.1 Spenderalter

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Minimum (Jahre)	7
Maximum (Jahre)	56
Mittelwert (Jahre)	31,55
Standardabweichung (Jahre)	13,64

Verteilung in der Placebogruppe:

Minimum (Jahre)	18
Maximum (Jahre)	46
Mittelwert (Jahre)	31,75
Standardabweichung (Jahre)	10,31



3.1.1.2 Empfängeralter

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

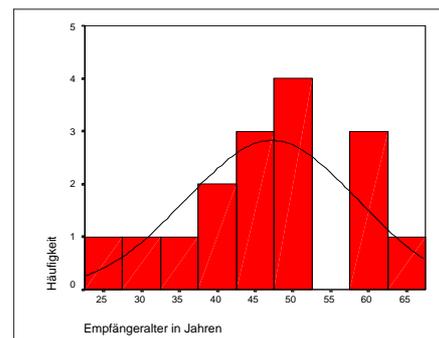
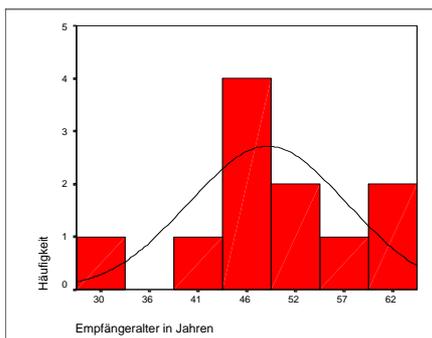
Minimum (Jahre)	31
Maximum (Jahre)	62
Mittelwert (Jahre)	48,55
Standardabweichung (Jahre)	8,64

Folglich ergab sich eine Altersspanne von 31-62 Jahren.

Verteilung in der Placebogruppe:

Minimum (Jahre)	25
Maximum (Jahre)	64
Mittelwert (Jahre)	47,19
Standardabweichung (Jahre)	11,27

Folglich ergab sich eine Altersspanne von 25-64 Jahren.



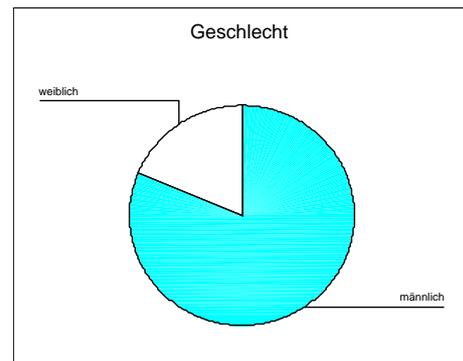
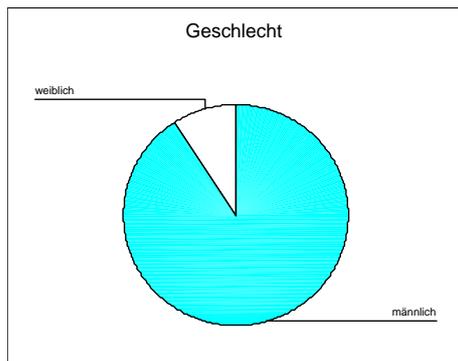
3.1.1.3 Geschlechtsverteilung

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Geschlechtsverteilung (männlich / weiblich)	10 / 1
---	--------

Verteilung in der Placebogruppe:

Geschlechtsverteilung (männlich / weiblich)	13 / 3
---	--------



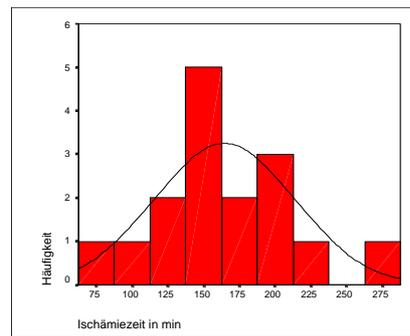
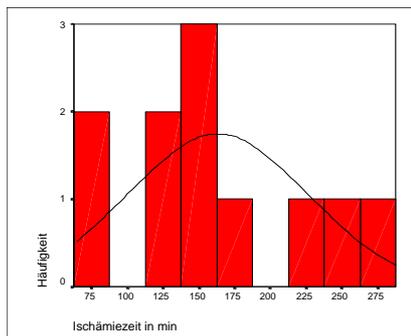
3.1.1.4 Ischämiezeit

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Minimum (min)	78
Maximum (min)	272
Mittelwert (min)	163
Standardabweichung (min)	62,80

Verteilung in der Placebogruppe:

Minimum (min)	82
Maximum (min)	287
Mittelwert (min)	164,44
Standardabweichung (min)	48,96



Im Folgenden wird geprüft, ob die aus der Verteilung der Ischämiezeit in beiden Kollektiven ein Einfluss auf die Inzidenz der Transplantatvaskulopathie nach 4 Jahren erkennbar war.

	Signifikanz
Generalized Wilcoxon Test	0

Wie zu erwarten zeigte sich keine unterschiedliche Inzidenz der Transplantatvaskulopathie. Trotzdem wäre es sinnvoll, den Einfluss der Ischämiezeit in großen klinischen Studien zu überprüfen gerade mit dem Hintergrund der immer größer werdenden Distanzen und Reisezeiten im jetzigen Allokationsmodell.

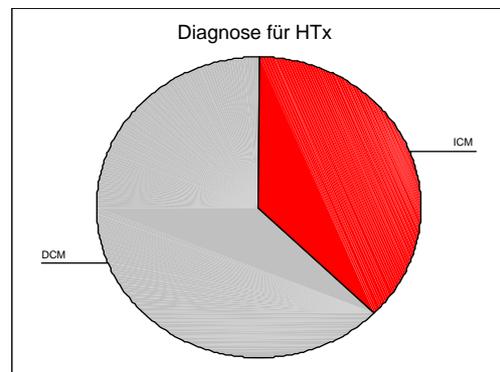
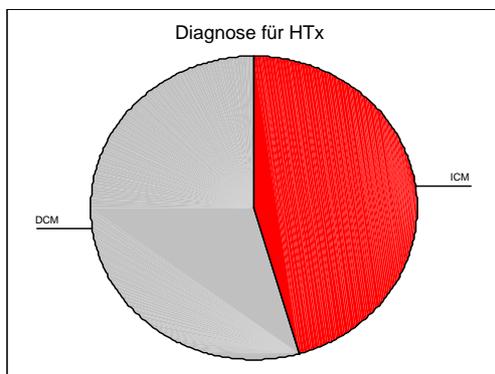
3.1.1.5 Diagnose

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Ischämische Kardiomyopathie (n)	5 / 11 (45 %)
Dilatative Kardiomyopathie (n)	6 / 11 (55 %)

Verteilung in der Placebogruppe:

Ischämische Kardiomyopathie (n)	6 / 16 (38 %)
Dilatative Kardiomyopathie (n)	10 / 16 (62 %)



3.1.1.6 Kriterien zur Randomisierung

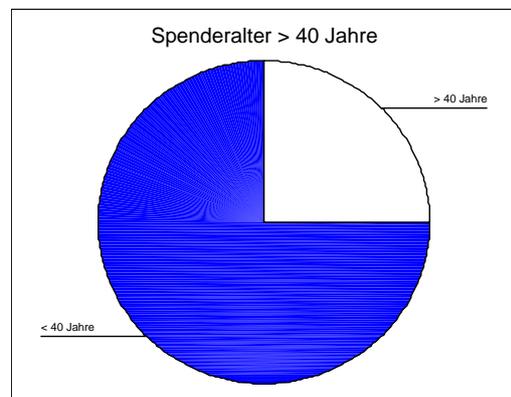
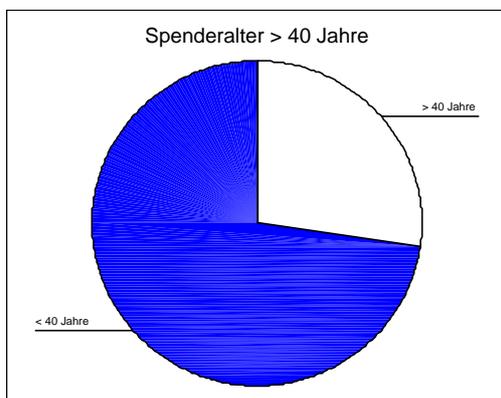
3.1.1.6.1 Spenderalter

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Spenderalter > 40 Jahre	3 / 11 (27 %)
-------------------------	---------------

Verteilung in der Placebogruppe:

Spenderalter > 40 Jahre	4 / 16 (25 %)
-------------------------	---------------



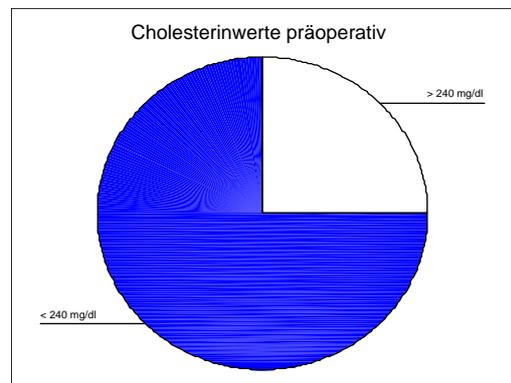
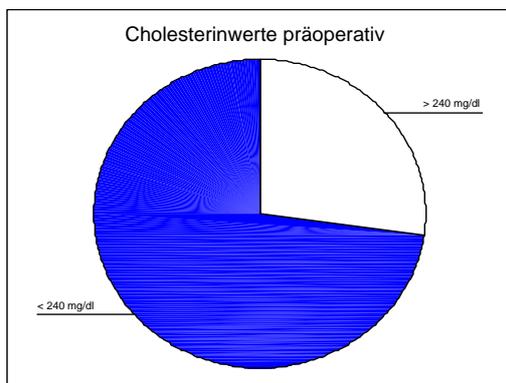
3.1.1.6.2 Präoperative Gesamtcholesterinwerte der Empfänger

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Cholesterin > 240 mg/dl	3 / 11 (27 %)
-------------------------	---------------

Verteilung in der Placebogruppe:

Cholesterin > 240 mg/dl	4 / 16 (25 %)
-------------------------	---------------



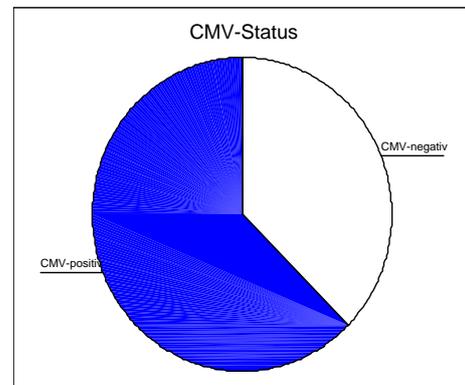
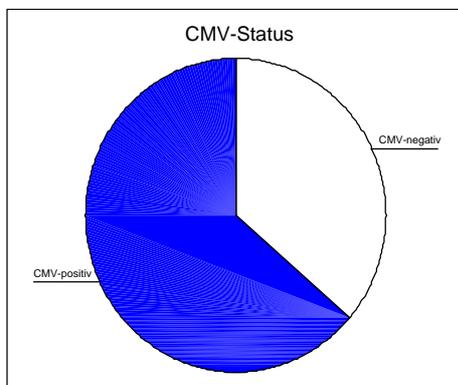
3.1.1.6.3 Positiver CMV-Status der Empfänger

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Positiver CMV-Status	7 / 11 (64 %)
----------------------	---------------

Verteilung in der Placebogruppe:

Positiver CMV-Status	10 / 16 (63 %)
----------------------	----------------



3.2 Überleben

Die statistische Auswertung der Überlebensraten der evaluierten Patienten erbrachte folgendes Ergebnis:

		Angioeptin	Placebo	Gesamt
	Patienten lebend (n)	11	14	25
	Patienten verstorben (n)	0	2	2
Gesamt		11	16	27

Überleben in der Kontrollgruppe

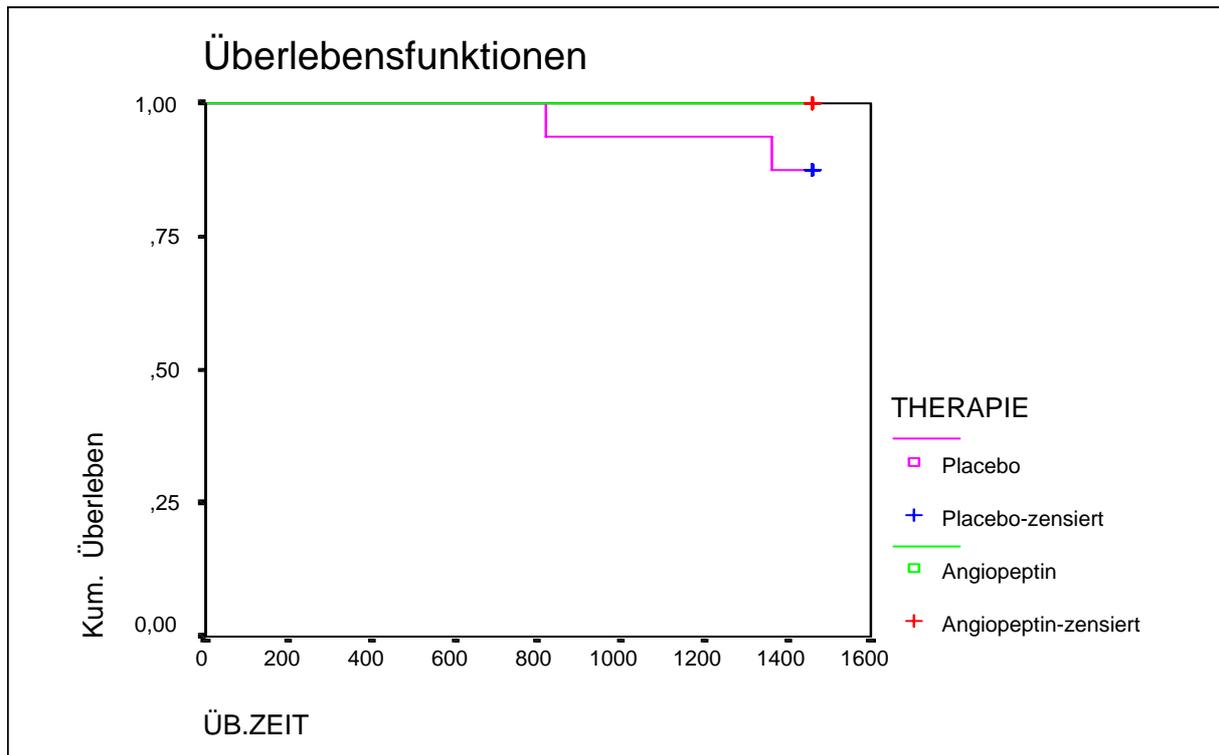
		Häufigkeit	(%)
	Patienten lebend (n)	14	87,5
	Patienten verstorben (n)	2	12,5
	Gesamt	16	100

Überleben in der Angioeptingruppe

		Häufigkeit	(%)
	Patienten lebend (n)	11	100

In der Kontrollgruppe verstarb der erste Patient 818 Tage nach Studienbeginn an einem Myokardinfarkt, womit zu diesem Zeitpunkt noch 93,8 % in der Kontrollgruppe am Leben waren; der zweite Patient verstarb nach 1364 Tagen an den Folgen eines Blasenkarzinoms, was sich in einer Überlebensstatistik von 87,5 % am Studienendpunkt in der Kontrollgruppe niederschlug. Bei beiden Patienten kann eine Transplantatvaskulopathie nachgewiesen werden und bei dem nach 818 Tagen verstorbenen Patienten wird die GVD als unmittelbare Todesursache diagnostiziert.

Diagramm 1: Überleben



Die zensierten Werte markieren hier jeweils den Endpunkt des Follow-Ups in diesem Fall 1460 Tage nach Transplantation.

	Signifikanz
Generalized Wilcoxon Test	0,23

Obwohl in der Placebogruppe 2 von 16 Patienten (entspricht 12,5 %) im Zeitraum der Studie verstarben, wurde lediglich eine Signifikanz, wie aus der Tabelle ersichtlich, von 0,23 erreicht.

Angiopeptin vermochte also im Zeitraum von 4 Jahren die Mortalität in diesem kleinen Patientenkollektiv nicht signifikant zu beeinflussen.

3.3 Transplantatvaskulopathie

3.3.1 Angiographischer Vergleich

Zur Verifizierung einer möglichen Transplantatvaskulopathie diente zum Zeitpunkt zwei und vier Jahre nach der Transplantation die Koronarangiographie, welche durch einen unabhängigen Kardiologen vor Entschlüsselung des Studiencodes befundet wurde.

Die Inzidenz der GVD stellt sich zu den obengenannten Zeitpunkten wie folgt dar. Darüber hinaus wurde vier Wochen nach Transplantation eine Baseline-Untersuchung mittels Angiographie durchgeführt, um den Krankheitszustand des Kollektivs zu Beginn der Studie zu definieren.

Tabelle 7: Inzidenz der GVD

	Angiopeptingruppe	Placebogruppe
Vorbestehende Arteriosklerose im Transplantat	0 % (0 / 11)	12 % (2 / 16)*
GVD diagnostiziert 2 Jahre nach Transplantation	9 % (1 / 11)	38 % (6 / 16)
GVD diagnostiziert 4 Jahre nach Transplantation	27 % (3 / 11)	44 % (7 / 16)

*Bei zwei Patienten aus der Kontrollgruppe konnten Wandunregelmäßigkeiten (Stenose < 30 %) an den Koronararterien in der Baseline-Angiographie festgestellt werden. Bei allen anderen Studienteilnehmern in beiden Gruppen wurden keine angiographisch sichtbaren Zeichen einer vorbestehenden Arteriosklerose nachgewiesen. Im Folgenden werden diese Veränderungen im Sinne einer antransplantierten Arteriosklerose verstanden und nicht in die Untersuchung mit einbezogen.

Die Evaluation hinsichtlich der nach der Transplantation **neu** aufgetretenen Transplantatvaskulopathie zeigte nach 2 Jahren eine geringere Inzidenz der Erkrankung in der Angiopeptingruppe (9 %) verglichen mit der in der Placebogruppe (38 %).

Die Inzidenz der GVD steigt jedoch zum Ende des 4-Jahres-Follow-up auf 27 % in der Angiopeptingruppe und auf 44 % in der Placebogruppe an.

Der Unterschied zwischen den beiden Behandlungsgruppen ist zu den Zeitpunkten 2 und 4 Jahren nach Transplantation statistisch nicht signifikant ($p = 0,183, 0,448$).

3.3.1.1 Vergleich 2 Jahre nach Transplantation

		Krank	Gesund	Gesamt
	Angioeptin	1	10	11
	Placebo	6	10	16
Gesamt		7	20	27

Chi-Quadrat-Test

	Signifikanz
Exakter Fisher Test	0,183

3.3.1.2 Vergleich 4 Jahre nach Transplantation

		Krank	Gesund	Gesamt
	Angioeptin	3	8	11
	Placebo	7	9	16
Gesamt		10	17	27

Chi-Quadrat-Test

	Signifikanz
Exakter Fisher Test	0,448

Eine weiter ins Detail gehende Evaluation der Patienten zeigte zum Ende des Follow-ups 4 Jahre nach Transplantation bei den erkrankten Patienten in der Angioeptingruppe (3 / 11) eine milde (30 - 50 %), eine mäßige (50 – 75 %) und eine schwere (75 – 99 %) Stenose in den untersuchten Koronararterien.

Im Kontrollkollektiv zeigten sich bei zwei der erkrankten Patienten (7/16) Wandunregelmäßigkeiten (< 30 %), bei einem Patienten eine milde (30 – 50 %) und bei einem weiteren eine mäßige Stenose (50 – 75 %). Bei den zwei fehlenden Patienten wurde ein kompletter Gefäßverschluss aufgrund der GVD mit nachfolgendem Myokardinfarkt nachgewiesen, von denen einer zum Tod des Patienten nach 818 Tagen nach Transplantation führte. Der zweite Patient verstarb an den Folgen eines Blasenkarzinoms.

Tabelle 8: Ausprägung der GVD in der Angioeptingruppe:

Keine Wandunregelmäßigkeiten	10 von 11 Patienten entspricht 91 %	8 von 11 Patienten entspricht 73 %
Stenosen < 30 %	1 von 11 Patienten entspricht 9 %	1 von 11 Patienten entspricht 9 %
Stenosen 30-50 %	0 von 11 Patienten	1 von 11 Patienten entspricht 9 %
Stenosen 50-75 %	0 von 11 Patienten	0 von 11 Patienten
Stenosen 75-99 %	0 von 11 Patienten	1 von 11 Patienten entspricht 9 %
100 %ige Stenose	0 von 11 Patienten	0 von 11 Patienten
Tod	0 von 11 Patienten	0 von 11 Patienten

Tabelle 9: Ausprägung der GVD in der Placebogruppe:

Ausprägung des Befundes	Herzkatheterbefund nach 2 Jahren	Herzkatheterbefund nach 4 Jahren
Keine Wandunregelmäßigkeiten	10 von 16 Patienten entspricht 62,5 %	9 von 16 Patienten entspricht 56,25 %
Stenosen < 30 %	4 von 16 Patienten entspricht 25 %	2 von 16 Patienten entspricht 12,5 %
Stenosen 30-50 %	0 von 16 Patienten	1 von 16 Patienten entspricht 6,25 %
Stenosen 50-75 %	0 von 16 Patienten	1 von 16 Patienten entspricht 6,25 %
Stenosen 75-99 %	0 von 16 Patienten	0 von 16 Patienten
100 %ige Stenose	2 von 16 Patienten entspricht 12,5 %	1 von 16 Patienten entspricht 6,25 %
Tod	0 von 16 Patienten	2 von 16 Patienten entspricht 12,5 %

3.3.2 Vergleich mittels Intravaskulärem Ultraschall (IVUS)

Nach einer Überarbeitung des Studienprotokolls wurde nach einer mittleren Zeitspanne von $33,5 \pm 5,2$ Monaten nach Transplantation als zusätzliches diagnostisches Kriterium ein Intrakoronarer Ultraschall durchgeführt.

Tabelle 10: IVUS-Daten

	Angioeptingruppe (n = 9) ¹	Placebogruppe (n = 14) ²
Modified Stanford Score (Range 1 – 6)	$2,5 \pm 1,6$	$3,1 \pm 1,4$
Mean Intimal Thickness (mm) ³	$0,18 \pm 0,2$	$0,27 \pm 0,20$
Intimal Index (%) ⁴	14 ± 15	22 ± 11

¹Zwei Patienten aus der Angioeptingruppe stimmten der Untersuchung nicht zu. Somit verringert sich die Anzahl auf neun teilnehmende Patienten.

²Zwei Patienten aus der Kontrollgruppe konnten nicht mittels intrakoronarem Ultraschall evaluiert werden. Ein Patient verstarb an einem Myokardinfarkt vor der vorgesehenen Untersuchung und ein weiterer Patient bot eine mittels des Katheters unpassierbare signifikante Stenose der infrarenalen Aorta.

³Als Grundlage zur Evaluation mittels Intrakoronarem Ultraschall dienten die drei Segmente des Ramus interventricularis anterior mit der schwersten Ausprägung an intimaler Stenosierung.

⁴Der Intimal Index (%) wurde errechnet aus folgendem Quotienten:

Intimadurchmesser in mm : (Intimadurchmesser in mm + Lumendurchmesser in mm)

Somit konnte die Evaluierung mittels IVUS den Trend aus den durchgeführten Koronarangiographien zum Zeitpunkt 2 Jahre nach Transplantation bestätigen: sowohl der Modified Stanford Score als auch die Mean Intimal Thickness waren in der Angioeptingruppe geringer ausgeprägt, der Intimal Index war in der Verumgruppe nahezu halb so groß wie in der Kontrollgruppe. Aufgrund der geringen Anzahl an Patienten konnte der Unterschied zwischen dem Modified Stanford Score, der Mean Intimal Thickness und des Intimal Index kein statistisch signifikantes Niveau erreichen, jedoch war zu allen Zeitpunkten ein Trend zu erkennen ($p = 0,23, 0,18, 0,22$).

Modified Stanford Score

	Signifikanz
Generalized Wilcoxon Test	0,23

Mean Intimal Thickness

	Signifikanz
Generalized Wilcoxon Test	0,18

Intimal Index

	Signifikanz
Generalized Wilcoxon Test	0,22

3.4 Abstoßungsreaktionen

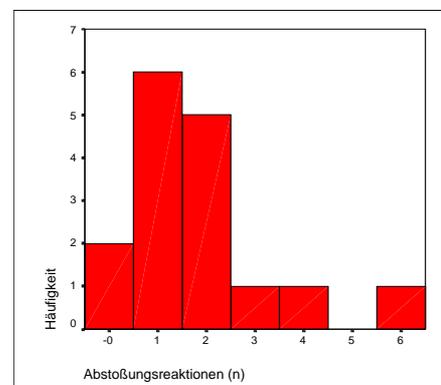
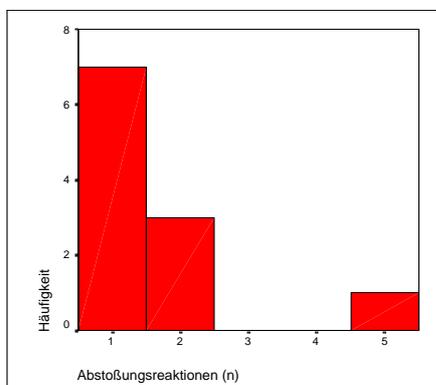
Da die Mehrheit der immunsuppressiven Medikamente sich in experimentellen Studien als protektiv gegenüber der Transplantatvaskulopathie erwiesen haben und diese deshalb hauptsächlich als eine durch Immunmechanismen ausgelöste Erkrankung verstanden wird, ist es interessant, ob Angiopeptin die Inzidenz von akuten Abstoßungen beeinflussen konnte.

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Minimum (n)	1
Maximum (n)	5
Mittelwert (n)	1,64
Standardabweichung	1,2

Verteilung in der Placebogruppe:

Minimum (n)	0
Maximum (n)	6
Mittelwert (n)	1,81
Standardabweichung	1,52



Statistischer Vergleich:

	Signifikanz
Generalized Wilcoxon-Test	0,86

Wie aus obiger Tabelle erkennbar war die Inzidenz von akuten Abstoßungsreaktionen in beiden Therapiegruppen statistisch nicht signifikant unterschiedlich. Angiopeptin beeinflusste nicht die Inzidenz von akuten Abstoßungsreaktionen.

Desweiteren wurde geprüft, ob die Abstoßungsreaktionen zu einer unterschiedlichen Inzidenz der Transplantatvaskulopathie führten im Hinblick auf die Tatsache, dass in der Angiopeptingruppe insgesamt 18 Abstoßungen bis zum Ende des Follow-Ups zu beobachten sind (1,6 Abstoßungen pro Patient) im Vergleich zu 29 Abstoßungen in der Placebogruppe (1,8 Abstoßungen pro Patient).

	Signifikanz
Generalized Wilcoxon Test	0,98

Folglich bestand kein statistisch signifikanter Unterschied.

3.5 Infektionen

Die Zahl der Infektionen pro Patient zeigte einen statistischen Unterschied zwischen den beiden Kollektiven ($2,18 \pm 2,04$ gegenüber $2,50 \pm 1,86$, $p = 0,04$). Bei Herausarbeitung der einzelnen Untergruppen wie bakterielle Infektionen, fungale Infektionen, virale Infektionen und schließlich die CMV-Infektion konnte dieser statistische Unterschied nicht mehr bestätigt werden.

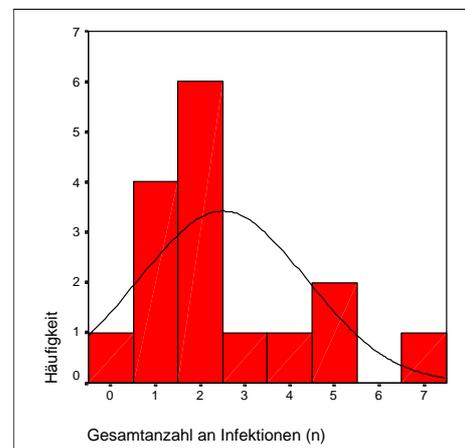
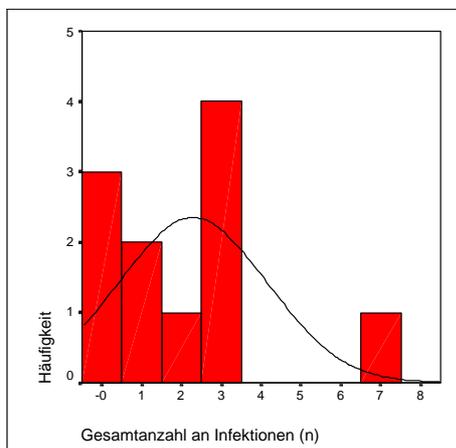
3.5.1 Gesamtanzahl der Infektionen:

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Minimum (n)	0
Maximum (n)	7
Mittelwert (n)	2,18
Standardabweichung	2,04

Verteilung in der Placebogruppe:

Minimum (n)	0
Maximum (n)	7
Mittelwert (n)	2,50
Standardabweichung	1,86



Statistischer Vergleich:

	Signifikanz
Generalized Wilcoxon Test	0,04

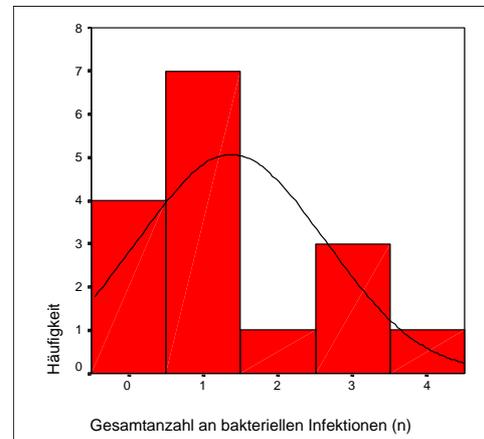
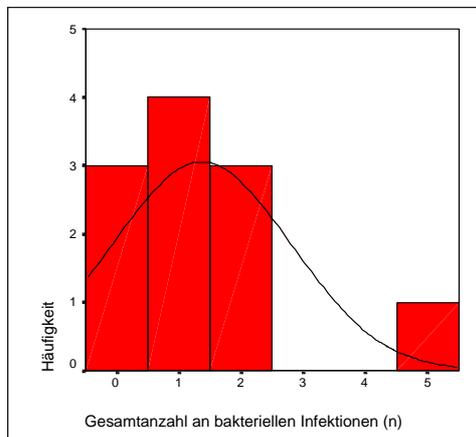
3.5.2 Bakterielle Infektionen

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Minimum (n)	0
Maximum (n)	5
Mittelwert (n)	1,36
Standardabweichung	1,43

Verteilung in der Placebogruppe:

Minimum (n)	0
Maximum (n)	4
Mittelwert (n)	1,38
Standardabweichung	1,26



Statistischer Vergleich:

	Signifikanz
Generalized Wilcoxon Test	0,24

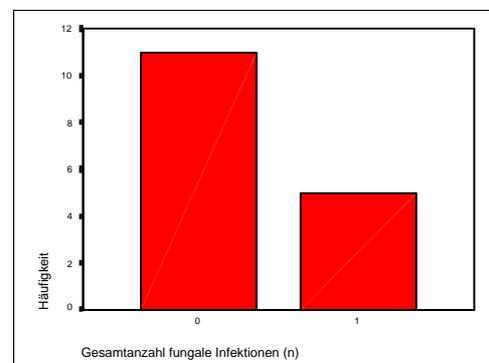
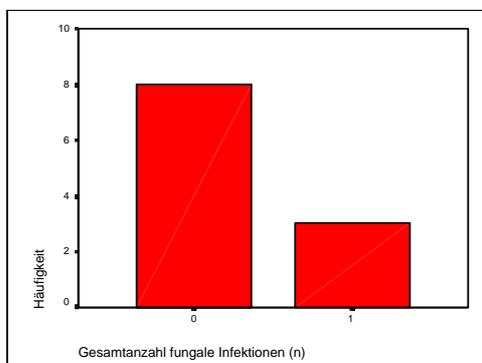
3.5.3 Fungale Infektionen

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Minimum (n)	0
Maximum (n)	1
Mittelwert (n)	0,27
Standardabweichung	0,47

Verteilung in der Placebogruppe:

Minimum (n)	0
Maximum (n)	1
Mittelwert (n)	0,31
Standardabweichung	0,48



Statistischer Vergleich:

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,59

Da hier lediglich die Ausprägungen 0 und 1 vorhanden waren, wurde erneut der exakte Test nach Fisher angewendet.

3.5.4 Virale Infektionen

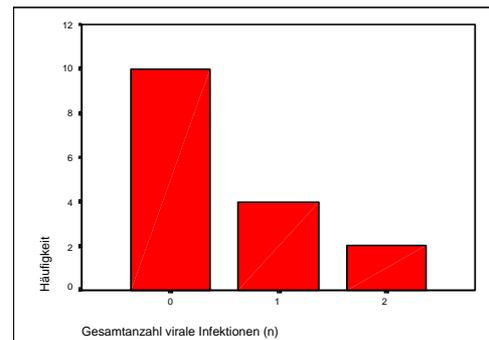
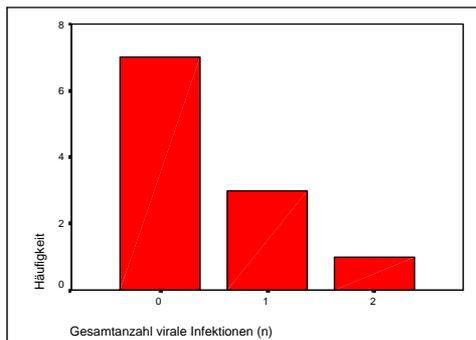
An dieser Stelle wurden alle virale Infektionen mit Ausnahme der CMV-Infektion nach Transplantation behandelt. Eine gesonderte Betrachtung der CMV-Infektion folgt im Anschluss.

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Minimum (n)	0
Maximum (n)	2
Mittelwert (n)	0,45
Standardabweichung	0,69

Verteilung in der Placebogruppe:

Minimum (n)	0
Maximum (n)	2
Mittelwert (n)	0,50
Standardabweichung	0,73



Statistischer Vergleich:

	Signifikanz
Generalized Wilcoxon Test	0

3.5.5 Die CMV-Infektion

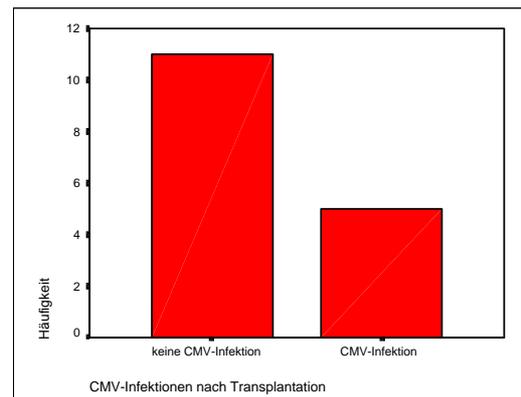
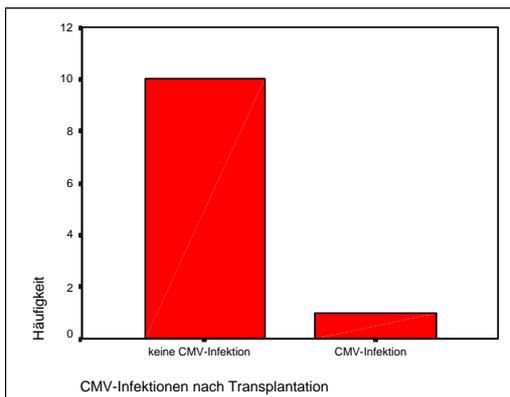
An dieser Stelle sollte nun untersucht werden, ob die Therapieform mit Angiopeptin oder Placebo einen Einfluss auf die Inzidenz von CMV-Infekten nach Transplantation besaß.

Verteilung in der Angiopeptingruppe

Minimum (n)	0
Maximum (n)	1
Mittelwert (n)	0,09
Standardabweichung	0,30

Verteilung in der Placebogruppe

Minimum (n)	0
Maximum (n)	1
Mittelwert (n)	0,31
Standardabweichung	0,48



Statistischer Vergleich

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,19

Obwohl in der Placebogruppe 5 CMV-Infektionen auftraten, während in der Verumgruppe nur 1 Infektion zu beobachten war, wird kein statistisch signifikantes Niveau erreicht.

Darüber hinaus wurde evaluiert, ob in diesem Kollektiv eine Korrelation zwischen den diagnostizierten CMV-Infekten und der Ausprägung einer Transplantatvaskulopathie nach 4 Jahren besteht.

Wie oben erkennbar trat in der Angiopeptingruppe eine Infektion auf, während in der Placebogruppe 5 CMV-Infektionen zu beobachten waren.

				Gesamt
		CMV-Infektion nach HTX	Keine CMV-Infektion nach HTX	
TVP nach 4 Jahren	Krank	3	7	10
	Gesund	3	14	17
Gesamt		6	21	27

	Signifikanz
Exakter test nach Fisher	0,39

Die im Follow-Up beobachteten CMV-Infektionen besaßen folglich in diesem Kollektiv keinen signifikanten Einfluss auf die Entwicklung einer Transplantatvaskulopathie.

Weiterhin wurde geprüft, ob schon bei Transplantation eines CMV-positiven Organs oder bei einem vorliegenden CMV-Mismatch (positiver Spender auf negativen Empfänger) sich häufiger eine klinisch manifeste CMV-Infektion entwickelt.

Verteilung in der Angiopeptingruppe

Empfänger erhielt ein CMV-positives Organ	3/11 (27 %)
Empfänger erhielt ein CMV-negatives Organ	8/11 (73 %)

Verteilung in der Placebogruppe

Empfänger erhielt ein CMV-positives Organ	5/16 (31 %)
Empfänger erhielt ein CMV-negatives Organ	11/16 (69 %)

Statistischer Vergleich

				Gesamt
		Positiver CMV-Status des Spenders	Negativer CMV-Status des Spenders	
	CMV-Infektion nach HTX	4	2	6
	Keine CMV-Infektion nach HTX	4	17	21
Gesamt		8	19	27

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,04

Folglich konnte die Transplantation eines CMV-positiven Organs die häufigere Manifestation von CMV-Infekten bedingen ($p = 0,04$).

Verteilung des CMV-Mismatches in der Angiopeptingruppe

CMV-negativer Spender erhält CMV-positives Organ	1/11 (9 %)
Kein vorliegendes Mismatch	10/11 (91 %)

Verteilung des CMV-Mismatches in der Placebogruppe

CMV-negativer Spender erhält CMV-positives Organ	2/16 (13 %)
Kein vorliegendes Mismatch	14/16 (87 %)

Statistischer Vergleich

		Kein Mismatch vorhanden	CMV-positiver Spender auf CMV-negativen Empfänger	Gesamt
	CMV-Infektion nach HTX	3	3	6
	Keine CMV-Infektion nach HTX	21		21
Gesamt		24	3	27

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,007

Bei Vorliegen eines CMV-Mismatches im Sinne einer Transplantation von CMV-positivem Organ auf einen CMV-negativen Empfänger folgten statistisch signifikant ($p = 0,007$) häufiger CMV-Infekte.

3.6 Die medikamentöse Therapie im Kollektiv

Ein Überblick über die medikamentöse Therapie einschließlich der Immunsuppression mit Cyclosporin A, Kortikosteroiden und Azathioprin ist in folgender Tabelle dargestellt.

Tabelle 10: Überblick über medikamentöse Therapie

Zeit nach HTx	Gruppe	Cyclosporin (mg / d)	% - Anteil mit Steroiden	% - Anteil mit Azathioprin	% - Anteil mit HMG – CoA – Redukt. – Inhibitoren	% - Anteil mit anti – hypertensiv. Therapie	% - Anteil mit Insulin
6 Monate	Angioeptin	351 ± 67	100	36	9	73	0
	Placebo	315 ± 73	100	38	13	69	0
12 Monate	Angioeptin	345 ± 69	100	36	9	91	0
	Placebo	301 ± 55	94	44	13	81	0
24 Monate	Angioeptin	296 ± 53	82	36	18	91	9
	Placebo	279 ± 67	87	38	20	80	0
48 Monate	Angioeptin	259 ± 63	55	18	36	73	18
	Placebo	261 ± 80	64	36	36	79	7

Exemplarisch folgen die Verteilung in beiden Behandlungsgruppen und der statistische Vergleich zu den bekannten Zeitpunkten 2 und 4 Jahre nach Transplantation.

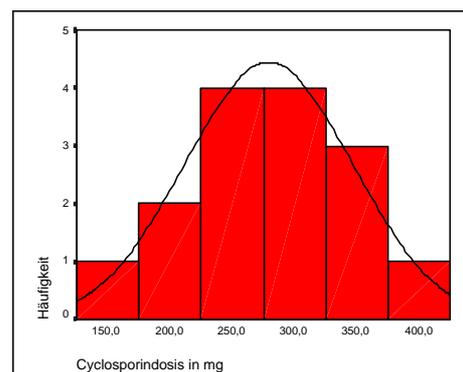
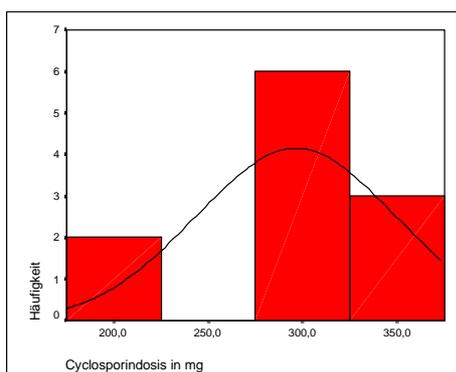
Verteilung der mittleren Cyclosporindosis nach 2 Jahren

Verteilung in der Angioeptingruppe

Minimum (mg/d)	200,00
Maximum (mg/d)	360,00
Mittelwert (mg/d)	296,36
Standardabweichung (mg/d)	52,78

Verteilung in der Placebogruppe

Minimum (mg/d)	150,00
Maximum (mg/d)	420,00
Mittelwert (mg/d)	279,33
Standardabweichung (mg/d)	67,24



Statistischer Vergleich

	Signifikanz
Generalized Wilcoxon Test	0

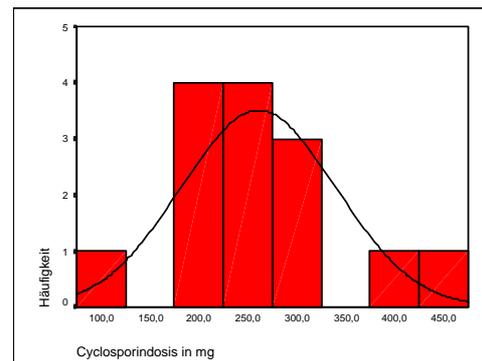
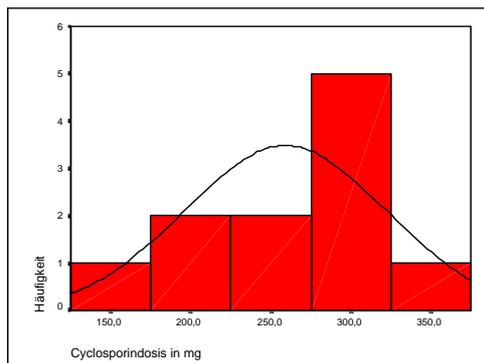
Verteilung der mittleren Cyclosporindosis nach 4 Jahren

Verteilung in der Angiopeptingruppe

Minimum (mg/d)	140,00
Maximum (mg/d)	360,00
Mittelwert (mg/d)	259,09
Standardabweichung (mg/d)	62,84

Verteilung in der Placebogruppe

Minimum (mg/d)	120
Maximum (mg/d)	430
Mittelwert (mg/d)	260.71
Standardabweichung (mg/d)	79.56



Statistischer Vergleich

	Signifikanz
Generalized Wilcoxon Test	0

Folglich waren die Cyclosporindosen, die verabreicht wurden, in den beiden Behandlungsgruppen zu beiden ausgewählten Zeitpunkten nicht unterschiedlich. Angiopeptin beeinflusste nicht die immunsuppressive Therapie mit Cyclosporin.

In diesem Patientenkollektiv kann zu den Zeitpunkten 2 und 4 Jahren nach Transplantation kein Zusammenhang zwischen verabreichter Cyclosporindosis und Auftreten einer Transplantatvaskulopathie gesehen werden.

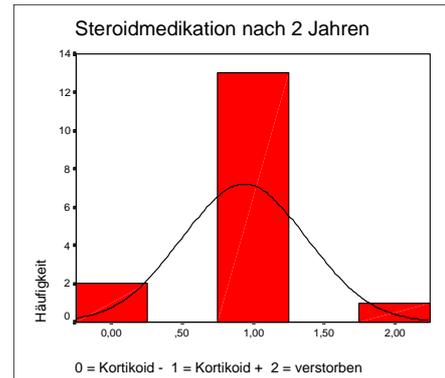
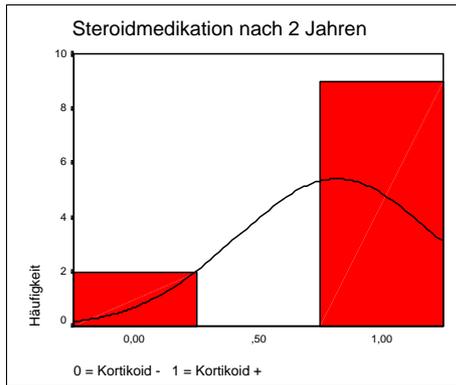
Prozentanteil der Steroidmedikation nach 2 Jahren:

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Prozentanteil mit Steroiden (%)	82
---------------------------------	----

Verteilung in der Placebogruppe:

Prozentanteil mit Steroiden (%)	87
---------------------------------	----



Statistischer Vergleich:

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,574

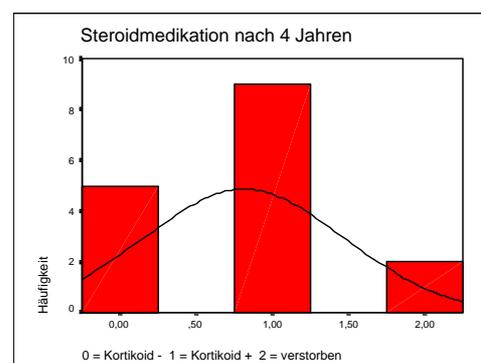
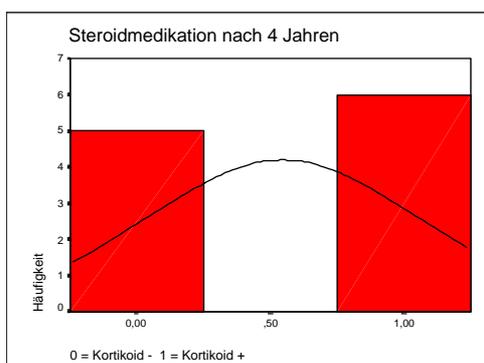
Prozentanteil der Steroidmedikation nach 4 Jahren:

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Prozentanteil mit Steroiden (%)	55
---------------------------------	----

Verteilung in der Placebogruppe:

Prozentanteil mit Steroiden (%)	64
---------------------------------	----



Statistischer Vergleich:

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,47

Wie aus den Tabellen ersichtlich bestand kein signifikanter Unterschied in beiden Behandlungsgruppen hinsichtlich der Medikation mit Steroiden nach orthotoper Herztransplantation.

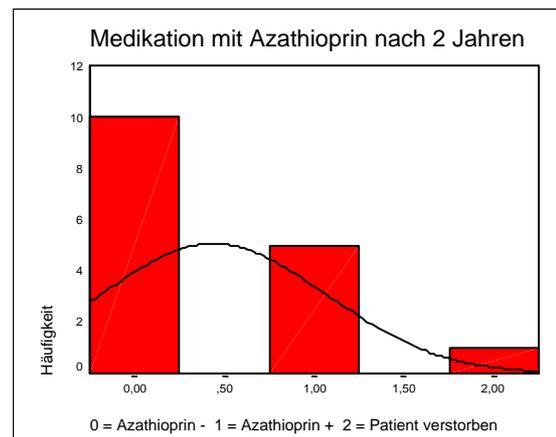
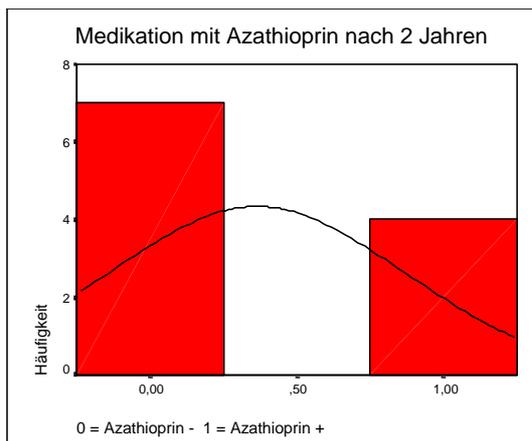
Prozentanteil der Medikation mit Azathioprin nach 2 Jahren

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Prozentanteil mit Azathioprin (%)	36
-----------------------------------	----

Verteilung in der Placebogruppe:

Prozentanteil mit Azathioprin (%)	33
-----------------------------------	----



Statistischer Vergleich:

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,6

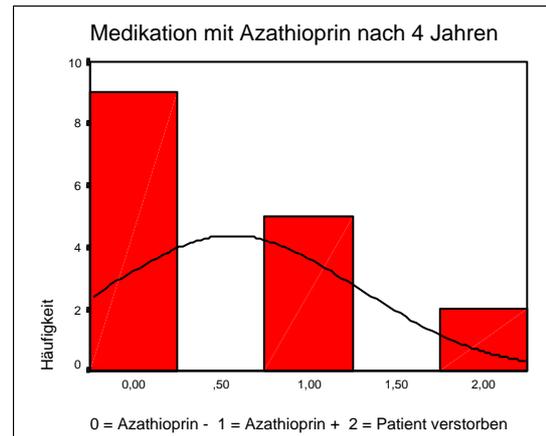
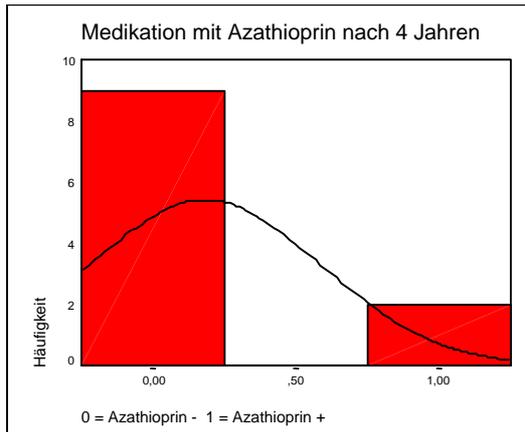
Prozentanteil der Medikation mit Azathioprin nach 4 Jahren:

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Prozentanteil mit Azathioprin (%)	18
-----------------------------------	----

Verteilung in der Placebogruppe:

Prozentanteil mit Azathioprin (%)	36
-----------------------------------	----



Statistischer Vergleich:

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,31

Folglich besaß die Studienmedikation keinen Einfluss auf den Prozentanteil der Patienten, welchen das Medikament Azathioprin verabreicht wurde.

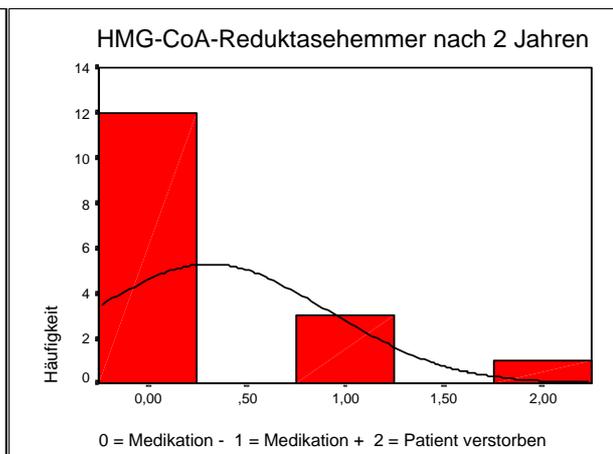
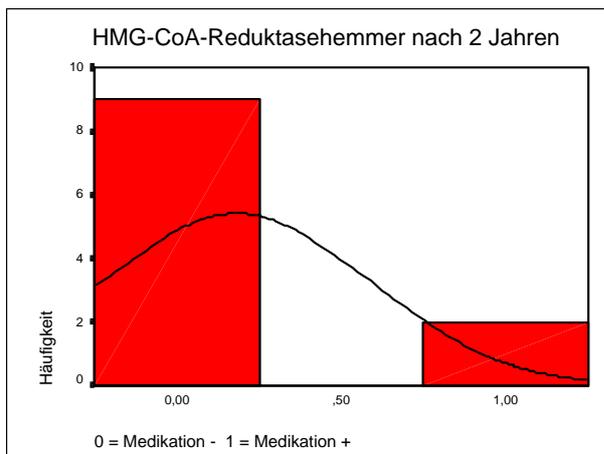
Prozentanteil der Medikation mit HMG-CoA-Reduktasehemmer nach 2 Jahren

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Prozentanteil mit HMG-CoA-Reduktasehemmer (%)	18
---	----

Verteilung in der Placebogruppe:

Prozentanteil mit HMG-CoA-Reduktasehemmer (%)	20
---	----



Statistischer Vergleich:

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,67

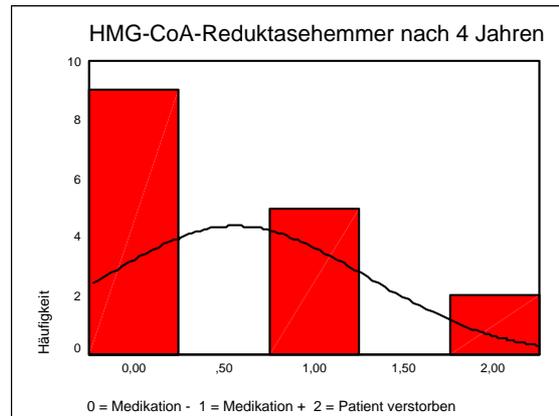
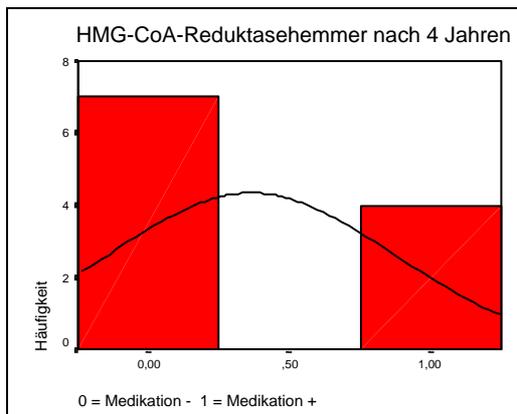
Prozentanteil der Medikation mit HMG-CoA-Reduktasehemmer nach 4 Jahren

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Prozentanteil mit HMG-CoA-Reduktasehemmer (%)	36
---	----

Verteilung in der Placebogruppe:

Prozentanteil mit HMG-CoA-Reduktasehemmer (%)	36
---	----



Statistischer Vergleich:

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,38

Folglich zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der Medikation mit HMG-CoA-Reduktasehemmer im Follow-up der Studiendauer.

In diesem Patientenkollektiv konnte den HMG-CoA-Reduktasehemmern statistisch keine signifikante protektive Wirkung gegenüber einer Transplantatvaskulopathie bescheinigt werden. Dies kann mit der damaligen Politik zusammenhängen, erst HMG-CoA-Reduktasehemmer einzusetzen, wenn tatsächlich Veränderungen der Serumlipide beobachtet wurden.

Aktuell werden am Klinikum Großhadern alle herztransplantierten Patienten nach der Transplantation mit einer geringen Dosis eines HMG-CoA-Reduktasehemmers behandelt (z.B. 5 mg Zocor 1mal täglich). Diese Dosis wird dann bei in Verlauf ansteigenden Blutwerten entsprechend angepasst.

Statistischer Vergleich nach 2 Jahren

				Gesamt
		Pat. erhält keinen HMG-CoA-Reduktasehemmer	Pat. erhält HMG-CoA-Reduktasehemmer	
	krank	3	3	6
	gesund	18	2	20
Gesamt		21	5	26

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,06

Statistischer Vergleich nach 4 Jahren

				Gesamt
		Pat. erhält keine HMG-CoA-Reduktasehemmer	Pat erhält HMG-CoA-Reduktasehemmer	
	krank	7	1	8
	gesund	9	8	17
Gesamt		16	9	25

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,11

In diesem Kollektiv war demnach ein Trend zu erkennen, dass die Medikation mit HMG-CoA-reduktasehemmer die Inzidenz der GVD beeinflussen kann.

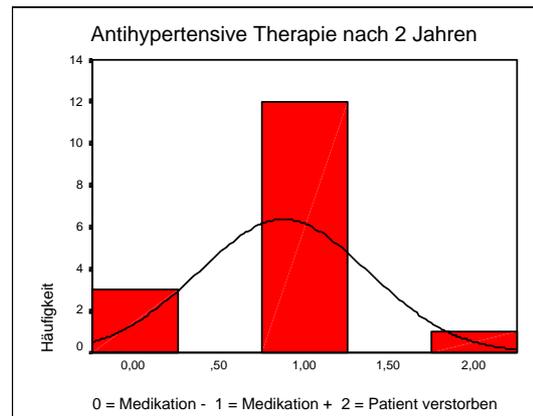
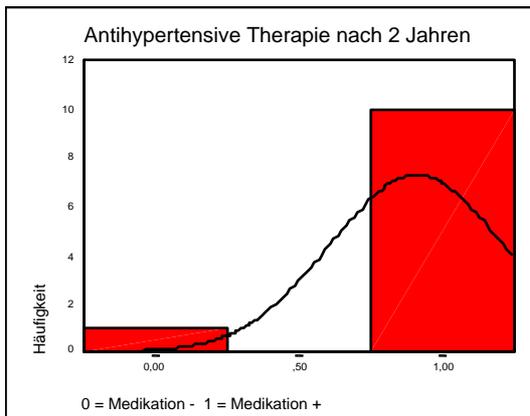
Prozentanteil der antihypertensiven Therapie nach 2 Jahren

Verteilung in der Angiotensin-Gruppe:

Prozentanteil mit antihypertensiver Therapie (%)	91
--	----

Verteilung in der Placebogruppe:

Prozentanteil mit antihypertensiver Therapie (%)	80
--	----



Statistischer Vergleich:

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,43

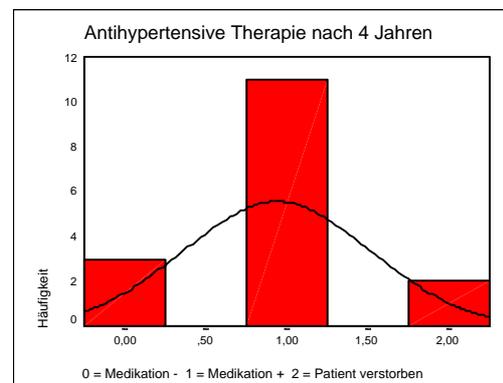
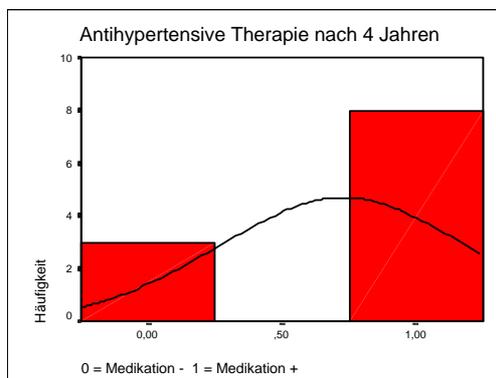
Prozentanteil der antihypertensiven Therapie nach 4 Jahren

Verteilung in der Angiotensin-Gruppe:

Prozentanteil mit antihypertensiver Therapie (%)	73
--	----

Verteilung in der Placebogruppe:

Prozentanteil mit antihypertensiver Therapie (%)	79
--	----



Statistischer Vergleich:

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,55

Folglich konnte kein Unterschied in der notwendigen Medikation mit Antihypertensiva in den beiden Gruppen nachgewiesen werden. Angiotensin besitzt somit keinen Einfluss auf den Blutdruck und dessen Einstellung.

Im Folgenden sollte überprüft werden, ob eine antihypertensive Therapie in diesem Kollektiv mit Calciumkanalblockern die Inzidenz der Transplantatvaskulopathie beeinflussen konnte.

Statistischer Vergleich nach 2 Jahren

		Pat. erhält kein Antihypertonikum	Pat. erhält Antihypertonikum	Gesamt
	krank		6	6
	gesund	4	16	20
Gesamt		4	22	26

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,32

Statistischer Vergleich nach 4 Jahren

		Pat. erhält kein Antihypertonikum	Pat. erhält Antihypertonikum	Gesamt
	krank	1	7	8
	gesund	5	12	17
Gesamt		6	19	25

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,35

Folglich konnte die antihypertensive Therapie in diesem Kollektiv das Auftreten der Transplantatvaskulopathie nicht beeinflussen.

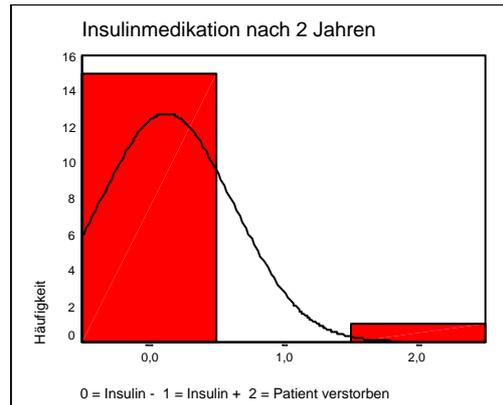
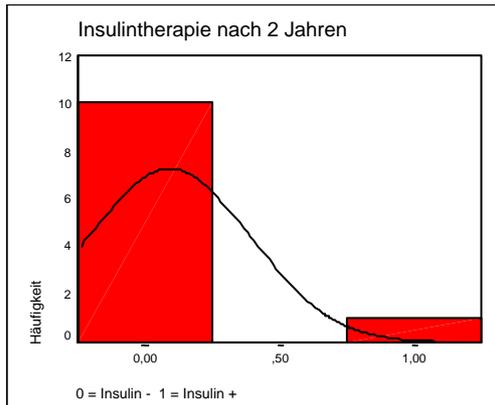
Prozentanteil der Insulinmedikation nach 2 Jahren

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Prozentanteil der Insulinmedikation (%)	9
---	---

Verteilung in der Placebogruppe:

Prozentanteil der Insulinmedikation (%)	0
---	---



Statistischer Vergleich:

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,42

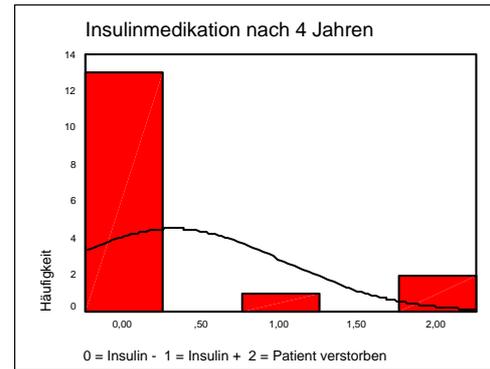
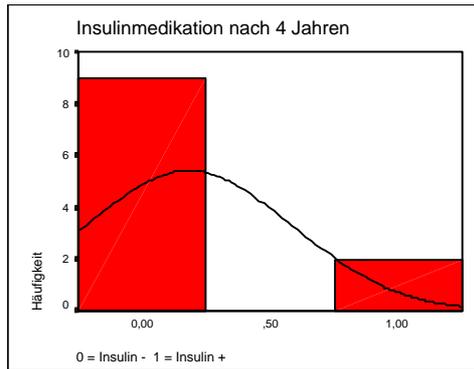
Prozentanteil der Insulinmedikation nach 4 Jahren

Verteilung in der Angiopeptingruppe:

Prozentanteil der Insulinmedikation (%)	18
---	----

Verteilung in der Placebogruppe:

Prozentanteil der Insulinmedikation (%)	7
---	---



Statistischer Vergleich:

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,41

Es konnte kein statistisch signifikanter Unterschied in der Insulinmedikation festgestellt werden. Angiopeptin beeinflusste die Inzidenz eines insulinpflichtigen Diabetes nicht.

Im Folgenden sollte an diesem Patientenkollektiv untersucht werden, ob der insulinpflichtige Diabetes mellitus einen Einfluss auf die Entwicklung einer Transplantatvaskulopathie besitzt.

Statistischer Vergleich nach 2 Jahren

		Pat. erhält Insulin	Pat. erhält kein Insulin	Gesamt
	krank		6	6
	gesund	1	19	20
Gesamt		1	25	26

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,77

Statistischer Vergleich nach 4 Jahren

		Pat. erhält Insulin	Pat. erhält kein Insulin	Gesamt
	krank	1	7	8
	gesund	2	15	17
Gesamt		3	22	25

	Signifikanz
Exakter Test nach Fisher	0,70

Ein insulinpflichtiger Diabetes mellitus konnte in diesem Kollektiv die Entstehung einer Transplantatvaskulopathie nicht signifikant beeinflussen.

4. Diskussion: Graft Vessel Disease – Die schwerwiegendste Komplikation im Langzeitverlauf nach Herztransplantation

4.1 Transplantatvaskulopathie – Entstehung / Pathogenese

Die Transplantatvaskulopathie (Cardiac Allograft Vasculopathy CAV, Graft Vessel Disease GVD) stellt die wichtigste Langzeitkomplikation nach Herztransplantation dar und ist der Hauptgrund für Todesfälle jenseits des ersten postoperativen Jahres [166].

Diese besondere Form der Vaskulopathie befällt sowohl intramyokardiale als auch epikardiale Koronararterien und -venen [42]. Die Krankheit betrifft alle Gefäße des Transplantates, schließt hierbei das mittransplantierte Aortensegment des Spenders mit ein, spart aber alle anderen Gefäße im Körper des Empfängers aus [104].

Die erste klinische Manifestation tritt aufgrund des fehlenden Angina-Pectoris-Schmerzes in Form von ventrikulären Arrhythmien, ischämischer Kardiomyopathie oder im plötzlichen Herztod auf. In einer multizentrischen Studie wurde gezeigt, dass die Wahrscheinlichkeit, eine vorhandene GVD mittels Angiographie nach einem, zwei bzw. nach vier Jahren nachzuweisen bei 11 %, 22 % bzw. 45 % liegt [64]. Im intrakoronaren Ultraschall ist jedoch schon nach einem Jahr in 75 % der Fälle eine Zunahme der Intimadicke zu beobachten [434]. Weiterhin wird die Diagnostik erschwert, da in den meisten Fällen zuerst kleine intramyokardiale Gefäße in Mitleidenschaft gezogen werden [153] oder funktionelle Veränderungen ohne sichtbares morphologisches Korrelat in den Vordergrund treten [415].

4.1.1 Pathologische Eigenschaften

Pathologische Veränderungen, die am ehesten die der Transplantatvaskulopathie beschreiben, wurden erstmals 1968 von Kosek und Mitarbeitern am Kaninchen beobachtet [185]. Die histologischen Veränderungen im Rahmen einer GVD stellten sich nicht einheitlich dar, sondern reichten von konzentrischen fibrösen Intimaverdickungen bis zu fokalen, exzentrischen Arterioskleroseplaques, welche deutlich an die herkömmlich bekannte Arteriosklerose erinnerten [310]. Es hat sich gezeigt, dass die frühzeitige Intimaproliferation fortschreitet und zu Lipid- und Kalziumablagerungen in den Koronargefäßen führte [42]. Ebenfalls häufig traten Atherome und diffuse Lipidanhäufungen sowohl in Intima als auch in der Media auf [234], wobei die Elastica bis auf seltene Ausnahmen unangetastet blieb [42].

Kurz nach Transplantation dominieren diffus, konzentrische, fibröse Intimaverdickung und Zeichen, die an eine Vaskulitis erinnern. Später treten fokale Plaques, eine diffuse Intimaverdickung oder aber auch eine Mischung aus beiden Phänomenen in den Vordergrund [154].

Trotz der deutlichen Intimaproliferation erscheint die Media selten dicker und wird manchmal sogar dünner als unter normalen Bedingungen [43].

Das zelluläre Intimainfiltrat besteht aus umgewandelten glatten Muskelzellen, Makrophagen bzw. Monozyten und T-Lymphozyten [154].

4.1.2 Pathophysiologie

Obwohl die genaue Pathogenese der GVD noch unbekannt ist, deuten einige Ansätze darauf hin, dass es sich primär um eine Krankheit handelt, die durch Immunfaktoren ausgelöst wird:

1. Die GVD beschränkt sich auf das Gefäßsystem des Transplantates [415].
2. Die Transplantatvaskulopathie zeigt kein einheitliches Erscheinungsbild, sondern führt zu vielgestaltlichen Veränderungen [415].
3. Die Entwicklung der GVD lässt sich im Tierversuch bei unterschiedlichen Histokompatibilitätskomplexen provozieren [415].
4. Die Transplantatvaskulopathie entwickelt sich ebenfalls bei experimenteller isologer / syngener (genetisch identische Individuen, wie zum Beispiel eineiige Zwillinge) Transplantation, wenn auch in geringerer Ausprägung [274, 297, 259, 228].

Beim primär auslösenden Faktor scheint es sich um eine klinisch nicht fassbare Endothelschädigung zu handeln. Diese Endothelzellen sind für die Funktion der Gefäßwand von entscheidender Bedeutung. Sie verhindern im Normalfall die Adhäsion von Thrombozyten und Leukozyten, regulieren die vasomotorische Funktion und hemmen die Proliferation der glatten Muskelzellen. Ein Endothelzellschaden könnte sowohl eine als auch alle diese Funktionen beeinträchtigen und das Gefäß empfindlicher gegenüber Entzündungsmediatoren, Thrombosen, Vasokonstriktion und der Proliferation der glatten Muskelzellen machen [390].

Nach Herztransplantation kann die humorale, aber die wahrscheinlich wichtigere zelluläre Immunantwort auf HLA-Antigene oder auf Antigene direkt an der Zellwand möglichen Auslöser für oben genannten Endothelzellschaden darstellen. Die durch CD-4-Lymphozyten angeregte Aktivierung von MHC-Klasse-II-Antigenen auf Endothelzellen (gefolgt von MHC-II-Aktivierung durch CD-8-Zellen) führt zu einer zellulären Immunantwort [214]. Nach neuen Erkenntnissen steht bei der HLA-Aktivierung der indirekte Weg im Vordergrund [230]. Die Rolle der unterschiedlichen MHC-Moleküle zwischen Spender und Empfänger in Bezug auf die Pathogenese der GVD ist aber noch nicht vollständig aufgeklärt. Bei einigen Autoren gilt ein komplettes HLA-DR-Mismatch als Risikofaktor [66], ebenso die postoperative Neubildung von Anti-HLA-Antikörpern [326].

In einer großen unizentrischen Studie wurde das Mismatch zwischen HLA-I- und HLA-II-Molekülen aber als nicht verantwortlich für die Entstehung einer GVD befunden [360]. Desweiteren kann eine Transplantatvaskulopathie bei MHC-identischen Transplantaten auftreten und die Tatsache, dass sogar bei genetisch manipulierten Tieren, bei denen jegliche MHC-Gene fehlen, Abstoßungsreaktionen vorkommen, deutet darauf hin, dass andere Antigene eine wichtige Rolle bei der Entstehung einer GVD spielen, wie z.B. ein dem Vimentin sehr ähnliches Protein [68, 69]. MHC-II-Antigene spielen womöglich in der Frühphase sogar eine untergeordnete Rolle in der Entstehung einer GVD [230].

Der Frage, welche Zellen für die Entstehung einer Transplantatvaskulopathie bzw. für das Zustandekommen der Intimaverdickung verantwortlich sind, gingen Shi C. und Mitarbeiter nach [357]. Zum einen fand die Arbeitsgruppe heraus, dass die Größenzunahme der Intima nicht etwa mit dem Ausmaß an Infiltration durch inflammatorische Zellen, sondern mit der Migration und Proliferation der glatten Muskelzellen korreliert. Die Arbeitsgruppe entfernte an dieser Stelle nacheinander jeweils Zellen, die für die entzündlichen Reize bekannterweise verantwortlich sind. Eine geringe Proliferation an glatten Muskelzellen konnte festgestellt werden bei Mäusen ohne oder mit geringer Zahl an CD₄-T-Helferzellen, humoralen Antikörpern und Makrophagen. Der Grund hierfür liegt wohl im Entfernen einer wichtigen Komponente für die Kaskade der Zytokinstimulation [270].

Jene Kaskade würde mit CD₄-T-Helferzellen beginnen, welche die B-Zell-Proliferation, die Bildung von humoralen Antikörpern [201] und die Stimulation von Makrophagen durch Antikörper mittels des Fcγ-Rezeptors [380] und schließlich die Fertigstellung der Makrophagen durch Wachstumsfaktoren wie FGF (Fibroblastic Growth Factor) oder PDGF (Platelet Derived Growth Faktor) in Gang brächte [328]. Wird diese Kette an Reaktionen an einem Punkt unterbrochen, würde die Verminderung an FGF und PDGF, welche auch durch Makrophagen hergestellt werden, in der Inhibierung der Proliferation und Migration der glatten Muskelzellen enden. Diese Unterbrechung kann zum Beispiel durch das Fehlen des positiven Feedbacks für CD₄-T-Helferzellen mittels Antigenpräsentation durch B-Zellen oder Makrophagen bedingt sein. Demnach sind vor allem CD₄-T-Helferzellen, B-Zellen und Makrophagen in der Entstehung der Transplantatvaskulopathie wichtig [357].

Tabelle 11: Intimaverdickung in Abhängigkeit verschiedener immunogener Zellen

Eigenschaften der Zellen	Ausmaß der Intimaverdickung in %
Konventionelle Zelle	100
Keine B- und T-Zellen	5
Keine B-Zellen	10
Keine CD4-Zellen	45
Keine CD8-Zellen	85
Keine natürlichen Killerzellen	95
Keine Makrophagen	35

Gezeigt wird das Ausmaß an Verdickung der Intima in Abwesenheit verschiedener proinflammatorischer Zellen [274].

Im Folgenden soll nun auf den humoralen Aspekt in der Entstehung einer Transplantatvaskulopathie eingegangen werden. M. Russell stellte in ihrem Vortrag am Kongress 'Changing Concepts For The Coronary Circulation – Perspectives Beyond The Usual' im Juni 1999 am Klinikum Großhadern noch einmal heraus, dass die Transplantatvaskulopathie zu Beginn einer Endothelitis gleicht und es erst später zu einem fibrotischen Umbau der Intima kommt [334]. Paul S. Russell und Mitarbeiter machten deutlich, dass jenes Stadium der Endothelitis sich in vollkommener Abwesenheit von humoralen Antikörpern entwickeln kann durch Anhäufung von T-Zellen und Makrophagen. Die zweite Phase, in der die angesprochene fibrotische Neointima gebildet wird, scheint durch humorale Immunität gekennzeichnet zu sein, welche glatte Muskelzellen des Spenders proliferieren lässt und zur Bildung einer intrazellulären Matrix in der Gefäßwand führt [335].

D. Brändle et al geben hier allerdings zu bedenken, dass zumindest in der akuten Abstoßungsreaktion B-Zellen nur eine potente Rolle spielen, wenn T-Zellen durch Cyclosporin A inhibiert werden. Im Normalfall erfüllen B-Zellen die Aufgabe der Antikörperproduktion und der Antigenpräsentation. In der Phase der Abstoßung aber steht die Funktion der Antikörperproduktion eindeutig im Vordergrund [46]. Die Präsentation der Antigene wird in diesem Fall wohl von dendritischen Zellen übernommen [265]. Eine Hypothese lautet also, dass die Persistenz von Antikörpern in die chronische Abstoßung mündet [159].

Einige andere Studien zeigten auch, dass Antikörper gegen Non-HLA-Antigene auf Endothelzellen für die chronische Abstoßung von Bedeutung sind [82, 68, 69, 95, 5].

Abgesehen vom primären spezifischen Immunmechanismus folgt anschließend eine scheinbar physiologische, nicht spezifische Entzündungsreaktion [83]. Wichtig ist zu beachten, dass aktivierte Lymphozyten Interferon- γ sezernieren und so die Produktion von Intrazellulärem Adhäsionsmolekül 1 (ICAM-1) stimulieren [198]. Solche Adhäsionsmoleküle regulieren die Interaktion zwischen Entzündungszellen und Zellen der Gefäßwand, da die Adhäsion von Leukozyten am Gefäßendothel Voraussetzung für die Transmigration darstellt. Die Präsentation von derartigen Adhäsionsmolekülen (VCAM-1, ICAM-1, ELAM-1) auf Endothelzellen und glatten Muskelzellen wird bei Patienten nach Herztransplantation beobachtet und die frühe Expression von ICAM-1 sollte mit für das frühe Sichtbarwerden einer GVD in der Angiographie verantwortlich sein [198, 20]. Makrophagen, T-Lymphozyten, Endothelzellen und glatte Muskelzellen produzieren zahlreiche stimulierende Zytokine (IL-1, IL-2, IL-6, Tumor-Nekrose-Faktor- α) und Wachstumsfaktoren (PDGF, IGF-1, FGF, HBGF, EGF, GM-CSF, TGF- β), welche die Entstehung der GVD weiter positiv beeinflussen dürften [71]. Am Ende des das Endothel verletzenden Prozesses führt die chronische Entzündungsreaktion zur Produktion von Zellmatrix, zur Bildung von Kollagen, zum Anstieg der thrombogenen Aktivität des Endothels und zur Migration und Proliferation von glatten Muskelzellen, die letztendlich das Gefäßlumen einengen [311].

Darüber hinaus wird die NO-bedingte Apoptose in glatten Muskelzellen mit der Intimaverdickung in Verbindung gebracht. Dong et al [78] erbrachten den pathologischen Beweis für die Zytotoxizität der Fas-bedingten Apoptose bei der GVD. Stickstoffmonoxid besitzt folglich die Fähigkeit, die Apoptose zu beeinflussen [308] und ist während einer Abstoßungsreaktion erhöht [378]. Die Induktion der NO-Synthetase im Zusammenhang mit der GVD wurde nach Herztransplantation an der Ratte beschrieben. Während einer akuten Abstoßungsreaktion wird NO gebildet und unterhält dabei eben den akuten Ablauf. Im Gegensatz dazu wird die NO-Synthese bei der chronischen Abstoßungsreaktion in den Parenchymzellen aktiviert und führt so zu einer Hemmung der Proliferation von glatten Muskelzellen. NO spielt also in der Aufrechterhaltung der Gefäßintegrität nach Transplantation eine entscheidende Rolle. Störungen im Syntheseweg kommt eine grosse Bedeutung im Wandel von der endothelialen Dysfunktion zu strukturellen Veränderungen zu [333].

White und Mitarbeiter untersuchten die Aus- und Wechselwirkungen zwischen Fas-Rezeptor, Fas-Ligand und der eigentlichen Apoptose an Mäusen nach heterotoper Transplantation in Abwesenheit jeglicher Immunsuppression [423]. Interessanterweise zeigten sowohl allogene als auch syngene Transplantate nahezu gleiche Ausmaße an vorhandener Apoptose, wobei nur in allogenen Modellen mRNA des Fas-Liganden nachgewiesen werden konnte. Es ist denkbar, dass die Interaktion zwischen Fas-Rezeptor und Ligand in allogenen Organen sehr wichtig für das Zustandekommen der Apoptose ist und dass bei syngenen Transplantationen andere Mechanismen zum Tragen kommen. Dazu muss beachtet werden, dass apoptotische Zellen sehr schnell phagozytiert werden und deshalb eine sehr geringe Zahl überhaupt nachzuweisen war. Hypoxische Zustände fördern an Kardiomyozyten der Ratte die Apoptose [383] und vorhandener Reperfusionsschaden führt an Kaninchen ebenfalls zu dieser besonderen Art des Zelltodes [116]. Da aber in nativen, also nicht transplantierten Herzen, keine Apoptose zu beobachten ist, wird vermutet, dass entweder die Transplantation per se oder nachfolgende Umstände, wie zum Beispiel Ischämie oder Hypoxie, für diesen Vorgang verantwortlich sind [423].

Akyürek et al. untersuchten die Umstände der Apoptose bei Vorhandensein und bei Fehlen einer Immunsuppression mit Cyclosporin A [3]. Die Kontrollgruppe wies deutliche Zeichen einer Transplantatvaskulopathie auf, wobei mit Cyclosporin behandelte Ratten weniger Neointima, weniger Mediaatrophie und auch weniger Zellen aufwiesen, die Fas oder den Liganden präsentierten. Überraschenderweise führte eine deutlich verlängerte Ischämiezeit (von 1 auf 18 Stunden) in diesem Experiment zu wenig weiteren morphologischen Veränderungen. Immunsuppression besitzt also einen protektiven Effekt gegenüber der eine GVD unterstützenden Apoptose. Diese wird in glatten Muskelzellen zumindest teilweise über die Proteinkinase C und A reguliert, welche wiederum mittels des Protoonkogens Bcl-2 reguliert werden [212]. Gleichzeitig fördern TNF- α , IL-1 und IFN- γ die Apoptose in glatten Muskelzellen [110]. Eben genannte Zytokine spielen für das Auftreten und Fortschreiten einer Transplantatvaskulopathie eine entscheidende Rolle. In vitro vermag auch NO die Expression an Fas und die Apoptose mittels eines cGMP-unabhängigen Mechanismus zu begünstigen [103]. Wachstumsfaktoren wie zum Beispiel PDGF, bFGF oder IGF-1 fördern nicht nur das Zellwachstum und die Proliferation, sondern sind auch in der Lage, einer möglichen Apoptose entgegenzuwirken [357]. Folglich werden glatte Muskelzellen auf der einen Seite apoptotisch beeinflusst aber zum anderen durch Wachstumsfaktoren zur Migration und Proliferation angetrieben [116]. Eine Arbeitsgruppe fand apoptotische Zellen vor allem in Intima, Media, Adventitia und in unmittelbarer Umgebung der epikardialen Arterien mit dem Hauptanteil in der Adventitia. Fas und der Fas-Ligand kam weniger häufig vor, wenn keine apoptotischen Zellen vorhanden waren im Gegensatz zu Bcl-2.

Zusammenfassend kann davon ausgegangen werden, dass das Verhindern der Apoptose von zum Beispiel T-Zellen oder Makrophagen der Transplantatvaskulopathie entgegenwirken würde [78].

Die Entwicklung einer klinisch manifesten CAV hängt auch von dem Zusammenspiel zwischen der Antwort auf die Endothelverletzung und der Fähigkeit zu einem Remodeling ab [111]. Das Größerwerden der Läsion überschreitet möglicherweise die Anpassungsfähigkeit des Gefäßes, so dass der entstandene Plaque zur Stenose führt. So erscheint die nicht mehr vorhandene Fähigkeit des Gefäßes, sich zu dilatieren, wichtig in der Pathogenese der Transplantatvaskulopathie [216]. So kann die dilatierende Angiopathie, eine spezielle Unterform der GVD, die Antwort auf eine überkompensatorische Dilatation sein [337].

4.1.3 Risikofaktoren

Zur Entwicklung einer GVD werden auch Faktoren diskutiert, die nicht aus dem immunologischen Formenkreis stammen [415]. Dazu gehören Eigenschaften des Empfängers wie Alter, Geschlecht, Adipositas, Hypertonie, Hyperlipidämie, Insulinresistenz und eine Infektion mit dem Zytomegalievirus (CMV), sowie Eigenschaften des Spenders wie Alter, Geschlecht, eine vorher bestandene Koronarerkrankung und die Ischämiezeit bei Explantation [156, 90, 105]. Eine multizentrische Studie mit Intrakoronarem Ultraschall (ICUS) zeigt jedoch keinen offensichtlichen Zusammenhang zwischen dem Fortschreiten der Intimaverdickung und mehreren nicht immunologischen Faktoren, eingeschlossen Qualitäten von Spender und Empfänger (Alter, Geschlecht, Unterschiede im Geschlecht, Diagnosen vor Transplantation, Ischämiezeit, Hochdruck nach Transplantation, Body Mass Index und CMV Infektion) [130].

4.1.3.1 Metabolische Risikofaktoren

Glukoseintoleranz und Insulinresistenz, Hypercholesterinämie, Hypertriglyceridämie und niedrige Serumkonzentrationen von HDL treten bei 50-80 % der Patienten nach Transplantation auf [167]. Seit kurzer Zeit wird bei der Bewertung des Zuckerstatus des Patienten vor allem die Aussagen herangezogen, welche man mit der Auswertung des Hämoglobin A₁C treffen kann. Die herkömmlichen Glukosekonzentrationen liefern hierbei wenig wertvolle Ergebnisse [163].

In vitro Studien haben die pathologische Potenz von LDL und besonders seiner oxidierten Derivate gegenüber dem Endothel aufgezeigt [191]. Eine Hypercholesterinämie kann durch die oxidative Inaktivierung von Stickstoffmonoxid die Vasorelaxation verhindern und so stellt das verletzte Endothel eine Quelle für Superoxidanionen dar. Eine deutliche Korrelation zwischen abnormen Lipidkonzentrationen und einer Dysfunktion des Endothels in Koronararterien wurde bei Patienten mit Arteriosklerose festgestellt, jedoch noch nicht nach orthotoper Herztransplantation [352, 129]. Eine multizentrische Studie mittels ICUS zeigt, dass die Intimaverdickung bei Patienten mit einem höheren LDL/HDL-Quotienten deutlicher ausgeprägt ist [401].

Die Hypercholesterinämie stellt einen sehr wichtigen Risikofaktor für die herkömmliche Arteriosklerose dar. Aus verschiedenen Gründen wurde sie aber auch in Zusammenhang mit der Transplantatvaskulopathie gebracht.

1. Man fand bei beiden Erkrankungen T-Lymphozyten, glatte Muskelzellen und Makrophagen in den jeweiligen Läsionen [157]. Makrophagen könnten zu den sogenannten Foam Cells mutieren [50], welche ebenfalls bei der Graft Vessel Disease beobachtet werden konnten [154, 41].
2. Auch bei der konventionellen Arteriosklerose wurde eine Beteiligung von Immunmechanismen diskutiert [367, 419].
3. Die Hyperlipidämie wurde häufig nach Herztransplantation beobachtet [421, 85, 33, 330, 53, 380, 26, 179, 364, 118, 92]. Die durch die Transplantation hervorgerufenen Schäden an der Gefäßwand könnten es Lipoproteinen erleichtern, einzudringen und so zu einem arteriosklerotischen und entzündlichem Prozess zu führen.

Experimente an der Ratte führten hierbei zu keinem eindeutigen Ergebnis [262, 314].

Beim Kaninchen führte aber die Hypercholesterinämie eindeutig zum Fortschreiten der Transplantatvaskulopathie [377, 9, 288, 137]. Verwendet man keinerlei Immunsuppression [262, 314, 137], geht die Endothelschicht zu Grunde [14]. Wird Azathioprin verwendet, treten noch stellenweise Endothelschäden auf [377] und kommt Cyclosporin zum Einsatz, so verbleibt das Endothel intakt [14, 197]. Das Verschwinden der Endothelzellschicht erhöhte die Permeabilität für Lipoproteine in Allografts von Arterien, die erhöhte die Akkumulation von Cholesterin [350, 283] und begünstigte so die Entwicklung einer Transplantatvaskulopathie in der Arterienwand [234].

In retrospektiven klinischen Studien kam man zu unterschiedlichen Ergebnissen [290, 133, 27, 238, 106].

Jedoch bestätigten immer mehr Studien einen Zusammenhang zwischen der Hypercholesterinämie oder der Hypertriglyceridämie und der Entwicklung einer Graft Vessel Disease [133, 27, 238, 90], und es konnte bei einer histopathologischen Untersuchung eine positive Korrelation zwischen der Akkumulation von Cholesterin und dem Ausmaß einer Transplantatvaskulopathie nachgewiesen werden [234].

In zahlreichen Studien wurden die Effekte von sogenannten HMG-CoA-Reduktasehemmern auf die Cholesterinkonzentration bei Herztransplantierten untersucht. Lovastatin [175, 16, 135, 196], Pravastatin [174] und Simvastatin [402, 28, 303, 56] vermochten das Plasmacholesterin signifikant zu vermindern. Zeichen einer Schädigung des Knochenmarks, was bei Verwendung von HMG-CoA-Reduktasehemmern vor allem in Verbindung mit Cyclosporin durchaus wichtig ist [63], wurden nur selten beobachtet, wenn geringe Dosen beider Medikamente zum Einsatz kamen.

In einer retrospektiven Studie verglich man 35 Patienten, transplantiert zwischen 1983 und 1988, die keine Behandlung hinsichtlich des Cholesteringehalts bekamen, mit 46 Patienten, transplantiert zwischen 1988 und 1991, welche entweder diätetisch oder aber in Kombination mit Lovastatin oder Simvastatin behandelt wurden [58]. Die Medikation konnte Mortalität oder das Vorliegen einer Transplantatvaskulopathie nicht beeinflussen bis zu drei Jahren nach Transplantation.

1995 veröffentlichten Kobashigawa und Mitarbeiter Ergebnisse, die anzeigten, dass Pravastatin nicht nur die Konzentrationen von Cholesterin und Triglyceriden signifikant zu vermindern vermochte, sondern es zeigte sich auch eine verminderte Progression der Transplantatvaskulopathie in der Studiengruppe, ebenfalls im signifikanten Niveau [174]. Als Diagnostikum standen hier die Angiographie und der intrakoronare Ultraschall zu Verfügung. Sowohl die Anzahl der akuten Abstoßungen als auch die Mortalität konnten verbessert werden.

Simvastatin erbrachte in einer randomisierten Studie den Beweis, vier Jahre nach Transplantation nicht nur die Konzentration von LDL-Cholesterin, sondern auch die Mortalität und die Inzidenz der Transplantatvaskulopathie zu vermindern [421].

Insgesamt wurde ein Effekt auf das Cholesterin und eine immunsuppressive Wirkung bei den hier genannten HMG-CoA-Reduktasehemmern diskutiert [174, 164]. Auch deshalb wurde von vielen die Meinung vertreten, alle Patienten nach Herztransplantation prophylaktisch mit diesen Medikamenten zu behandeln [400].

Es ist aber noch nicht bekannt, ob eine bereits vorhandene Erkrankung durch eine cholesterinsenkende Therapie in geringere Stadien zurückzudrängen ist. Das HELP-Verfahren (Heparin-induzierte Extrakorporale Lipid Aphaese) in Kombination mit cholesterinsenkender Medikation konnte schon zu einer Regression der Transplantatvaskulopathie führen [294, 295].

Ein vorliegender arterieller Hypertonus wurde sowohl in klinischen [421, 85] als auch in experimentellen Studien [307] mit der Entwicklung einer Transplantatvaskulopathie in Zusammenhang gebracht.

Folglich rückten Kalziumkanalblocker und ACE-Hemmer mit ihren möglichen Effekten auf die Proliferation und Migration von glatten Muskelzellen [309, 38] und auf die herkömmliche Arteriosklerose [138, 10] in den Mittelpunkt des Interesses.

An transplantierten Ratten waren die Ergebnisse widersprüchlicher Art. Amlodipin [22] erniedrigte die Inzidenz der Graft Vessel Disease, während Diltiazem [381] keinen Einfluss nachweisen konnte. Dem ACE-Hemmer Captopril dagegen wurde ein protektiver Einfluss zugebilligt [177].

Bis zu drei Jahren nach Transplantation konnten Schroeder und Mitarbeiter [348] in einer prospektiven und randomisierten Studie eine Reduktion der Transplantatvaskulopathie mit der Einnahme von Diltiazem nachweisen. Als Diagnostikum stand hier die Angiographie zur Verfügung. Der Blutdruck unterschied sich jedoch in Studien- und Kontrollgruppe nicht signifikant. Cyclosporin konnte in Diltiazemgruppen niedriger dosiert werden, jedoch waren die Talspiegel aufgrund der durch Diltiazem erhöhten Plasmakonzentration [44] von Cyclosporin in beiden Gruppen gleich.

Ein Jahr nach Transplantation verhinderten in einer durch Intrakoronaren Ultraschall kontrollierten Studie sowohl ein Kalziumantagonist, ein ACE-Hemmer oder die Kombination aus beiden die Entwicklung einer Transplantatvaskulopathie signifikant [241].

Der Zusammenhang zwischen den dargelegten Parametern und der Arteriosklerose ist hinreichend bekannt, insbesondere bei Patienten mit Insulinresistenz [388]. Ergebnisse von Valantine et al. deuten darauf hin, dass Glukoseintoleranz und Insulinresistenz, beobachtet nach Herztransplantation, sehr häufig in eine GVD münden [399].

Ein Zusammenhang zwischen den konventionellen kardiovaskulären Risikofaktoren wie Adipositas [90, 130], Rauchen und Diabetes mellitus [312, 313] konnte herausgearbeitet werden.

4.1.3.2. Spenderalter und Spendergeschlecht

Im Zuge der deutlich zurückgehenden Spenderzahlen, sowohl in den USA als auch in Europa, rücken Parameter wie Spenderalter und Spendergeschlecht zur Erweiterung des Spenderpools in den Vordergrund.

In Bezug auf Alter sowie Geschlecht konnten keine statistischen Unterschiede in der Graft Funktion, Inzidenz an Infektionen oder Überleben (Follow-up abhängig von der zugrundeliegenden Untersuchung bis zu 15 Jahren) festgestellt werden [140, 312, 313, 292, 355, 323, 237].

Die Arbeitsgruppe um Linda D. Sharples veröffentlichte 2003 jedoch Ergebnisse, welche darauf hindeuteten, dass sowohl das ständig steigende Spenderalter auch das männliche Spendergeschlecht als Risikofaktoren für die Entwicklung einer Transplantatvaskulopathie angesehen werden müssen [354].

4.1.3.3 Cytomegalievirusinfektion

Die humane CMV-Infektion wird schon länger mit der Transplantatvaskulopathie in Verbindung gebracht [119]. Das Gefäßendothel stellt ein willkommenes Ziel für diesen Virus dar und ein Frühgen dieses Virus kodiert für ein Protein, welches die gleiche Sequenz und eine Kreuzreaktivität mit mehreren Genen der HLA-DR-Gruppe besitzt [102]. Briggs et al machen darauf aufmerksam, dass jene Viren die Adhäsion von Monozyten, ihre Aktivierung und die Migration begünstigen [48]. Darüber hinaus kann die CMV-induzierte Blockade des Regulatorgens p53, ein Protein, welches die Proliferation von glatten Muskelzellen und die Apoptose verhindert, zum Fortschreiten einer GVD führen [353, 65]. Zytokine und die Fähigkeit des Virus, den Lipidmetabolismus zu beeinflussen, können den Schaden am Endothel noch vergrößern [415].

In einer Studie von Gulizia et al kam man jedoch zu dem Ergebnis, dass kein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein des CMV-Genoms und der Transplantatvaskulopathie besteht [123].

In einigen anderen Untersuchungen konnte ein positiver Zusammenhang zwischen dieser Infektion und der Graft Vessel Disease gefunden werden [119, 233, 189, 91, 187, 373, 218], während in anderen klinischen Studien dies nicht zu beobachten war [130, 312, 313, 292, 355, 123, 168]. Diese zuerst verwirrende Darstellung relativiert sich aber deutlich, schenkt man den unterschiedlichen klinischen Settings Aufmerksamkeit. Es bestanden nämlich Unterschiede in der Diagnostik der CMV-Infektion (z.B. durch Serologie oder in Kultur) und der Graft Vessel Disease (durch Angiographie, Intravaskulärem Ultraschall oder durch Autopsie).

In einigen Zentren wurde prophylaktisch zur Vermeidung jeglicher Herpesinfektionen in den ersten drei Monaten nach Transplantation das Medikament Aciclovir verabreicht und nur bei schweren Infektionen auf Ganciclovir zurückgegriffen [264].

1995 setzte sich jedoch das Medikament Ganciclovir gegenüber Aciclovir in der Behandlung mehr und mehr durch, nachdem es von Winston D.J. und Mitarbeitern nach Lebertransplantation seine Überlegenheit demonstriert hatte [425].

Es stellt sich weiterhin die Frage, ob eine prophylaktische Therapie einen nachvollziehbaren Benefit für die Patienten besitzt in geringerer Inzidenz der Transplantatvaskulopathie.

1999 zeigte die Arbeitsgruppe um H.A. Valantine, dass durch eine prophylaktische Therapie mit Ganciclovir eine geringere Inzidenz an Transplantatvaskulopathie vergesellschaftet sein kann [398]. Die Patienten (n = 62) erhielten in den ersten 14 Tagen alle 12 Stunden 5 mg/kg Ganciclovir und in den folgenden 2 Wochen einmal am Tag 6 mg/kg intravenös verabreicht. Die andere Gruppe (n = 59) erhielt ein Placebopräparat. In einer Multivarianten Analyse konnte ein statistisch signifikantes Risiko zur Entstehung einer Transplantatvaskulopathie bei Fehlen der prophylaktischen Therapie mit Ganciclovir bestätigt werden ($p < 0,01$).

Als eine Schlussfolgerung wurde abgeleitet, dass eine CMV-Infektion als Risikofaktor für die Entstehung einer Transplantatvaskulopathie angesehen werden kann. Folglich rückten die Risikofaktoren für eine CMV-Infektion oder Reaktivierung in das Blickfeld des Interesses.

1999 folgte eine Studie aus Cambridge, im Zuge dieser 14 CMV-negative Patienten, welchen Herzen von CMV-positiven Spendern transplantiert wurden und folgend 5 mg/kg Ganciclovir am Tag intravenös verabreicht bekamen, mit einer historischen Gruppe aus 17 herztransplantierten Patienten verglichen wurden. Der CMV-Antikörperstatus wurde mit einem Latex-Agglutinationstest durchgeführt. Bei 64% der transplantierten Patienten konnte laborchemisch eine CMV-Infektion nachgewiesen werden gegenüber 71 % in der Kontrollgruppe ($p = 0,96$). Bei 29 % der Behandelten entwickelte sich eine klinisch manifeste CMV-Infektion gegenüber 53 % in der Kontrollgruppe [427]. Hier konnte kein statistisch signifikantes Niveau erreicht werden, aber Ganciclovir konnte wie an anderer Stelle die klinische Manifestation einer CMV-Infektion beeinflussen [264].

Ebenfalls 1999 untersuchte eine Arbeitsgruppe aus Spanien den Einfluss der prophylaktischen Ganciclovirtherapie bei herztransplantierten Patienten. In diesem Set-up wurden CMV-positive Empfänger oder Empfänger, denen ein CMV-positives Herz transplantiert wurde, 28 Tage lang mit 5 mg/kg Ganciclovir i.v. behandelt. Diese Therapie wurde auf 5mg Ganciclovir i.v. zweimal am Tag für weitere 7 Tage ausgeweitet, wenn pp65-positive periphere Lymphozyten (Marker für Inflammation) nachgewiesen werden konnten. Ein Patient mit der zusätzlichen Behandlung entwickelte eine manifeste CMV-Infektion; kein Patient ohne über die 28-tägige Prophylaxe hinausgehende Therapie zeigte eine klinische CMV-Manifestation [293].

Zusammenfassend blieb es diskussionswürdig, ob und wie weit eine prophylaktische Therapie indiziert ist, wenn auch die angesprochene 28-tägige Prophylaxe mit Ganciclovir bei Patienten mit hohem Risikoprofil in den meisten Zentren durchgeführt wird.

Desweiteren bleibt abzuwarten ob die neu auf den Markt gekommenen oralen Verabreichungsformen von Aciclovir und Ganciclovir den Weg in die allgemeine klinische Praxis finden.

Die Arbeitsgruppe um Egan J. aus Manchester schloss 27 CMV-positive Patienten auf der Warteliste zur orthotopen Herztransplantation in eine randomisierte, doppelblinde Single-Center-Studie ein. Die Behandlungsgruppe erhielt nach Transplantation 2000 mg Valaciclovir (Valtrex®, Glaxo Wellcome Inc.) oral 4mal am Tag für 90 Tage, die Placebogruppe 200 mg Aciclovir (Zovirax®, Glaxo Wellcome Inc.). Untersucht wurden die eingeschlossenen Patienten auf den Nachweis von CMV-Antigenen im Blut. Weitere Endpunkte stellten symptomatische wie asymptomatische CMV-Infektionen und CMV-Infektionen an Endorganen dar. Darüber hinaus wurden andere Herpesinfektionen, andere opportunistische Infektionen und die Inzidenz der akuten Abstoßungen ins Follow-Up einbezogen. In der Aciclovir-Gruppe waren nach durchschnittlich 19 Tagen CMV-Antigene nachweisbar im Vergleich zu 119 Tagen in der Valaciclovir-Gruppe ($p = 0,049$) [84].

Darüber hinaus wurde von der Firma Roche ein Valylester des Ganciclovir das Valganciclovir (Valcyte®) bereitgestellt. Brown F. und Mitarbeiter untersuchten das ebenfalls oral zu verabreichende Medikament an 39 HIV- und CMV-positiven Patienten. Bei guter Resorption von Valganciclovir und Konversion ins aktive Ganciclovir konnten Dosen von 875 mg Valganciclovir und 1750 mg Valganciclovir die Wirkspiegel, vergleichbar mit einer intravenösen Therapie mit 5 mg/kg und 10 mg/kg Ganciclovir, erreichen [49].

Es bleibt folglich abzuwarten ob und wie weit sich oral verfügbare Medikamente mit dem Augenmerk der wesentlich einfacheren Möglichkeit der Gabe und den geringeren Nebenwirkungen im Vergleich zur intravenösen Therapie durchsetzen.

Der prophylaktische Einsatz eines Immunglobulins bei seronegativen Patienten konnte sich noch nicht durchsetzen [112].

Eine an unserem Zentrum durchgeführte Studie konnte bei prophylaktischer Verabreichung von Ganciclovir nach Herztransplantation im Verabreichungszeitraum (3 Monate) eine signifikant geringere Inzidenz von CMV-Infekten nachweisen [276].

Experimentell führte die CMV-Infektion in Endothelzellen des Herzen bei Ratten zu einer Erhöhung der Expression von MHC-II [396]. Ebenfalls an Ratten, die einer Transplantation der Aorta unterzogen wurden und keine Immunsuppression erhielten, bewirkte eine CMV-Infektion Folgendes:

- Verstärkung der subendothelialen Entzündungsreaktion [186]
- Induktion der Expression von m RNA des Platelet-Derived – und Transforming-Growth-Factors [24]
- Induktion der Intimaproliferation [208]

Das Medikament Ganciclovir konnte bei Verabreichung vor peritonealer CMV-Infektion an Ratten die Auswirkungen auf die Transplantatvaskulopathie komplett verhindern, während bei einer manifesten Infektion kein signifikantes Ergebnis erreicht werden konnte [207].

Auch bei Einsatz einer immunsuppressiven Medikation verstärkte die CMV-Infektion die Graft Vessel Disease [206]. Einzig Cyclosporin vermochte es, an herztransplantierten Ratten [127] und bei Ratten, denen eine Aorta transplantiert wurde [209], den CMV induzierten Einfluss abzuschwächen.

Am transplantierten Patienten bewirkt die Infektion mit diesem Virus wohl eine Induktion des VCAM-1 am Kapillarendothel [190], was den Effekt auf das Fortschreiten der Vaskulopathie erklären kann.

4.1.3.4 Ischämie und Reperfusion

Ischämie und Reperfusion, sowie ein eventueller Schaden durch die verwendeten Perfusionslösungen spielen eine Rolle als frühe, vorübergehende aber wichtige Kofaktoren bei der Verletzung des Endothels nach Transplantation [19, 72]. Hierbei scheint freien Sauerstoffradikalen sowie anderen aggressiven Mediatoren wie Proteasen, Zytokinen, Eicosanoiden mit konsekutiver Aktivierung und Adhäsion zirkulierender Leukozyten eine zentrale Bedeutung zuzukommen [19, 200].

Die Ischämiezeit stellt einen wichtigen Parameter dar, betrachtet man den Ablauf einer Herztransplantation von Entnahme des Spenderorgans bis zu seiner Implantation im Empfänger. Die Ischämiezeit stellt jenen Zeitraum dar, welcher vom Absetzen der Aorta im Spender bis zu Beginn der Reperfusion des Organs im Empfänger vergeht. In dieser Zeit wird das gespendete Herz in einer kardioplegischen Lösung aufbewahrt, um den Schaden durch das Fehlen der notwendigen Sauerstoffzufuhr möglichst gering zu halten. Der Einfluss der Ischämie wurde verstärkt untersucht mit Hinblick auf den Zeitraum unmittelbar nach der Transplantation [35]. Über die Auswirkungen der Ischämie im Langzeitverlauf auf die Transplantatvaskulopathie existieren jedoch nur wenige und widersprüchliche Studienergebnisse, welche allesamt aus experimentellen Ansätzen stammen, da noch keine Erkenntnisse aus klinischen Studien vorliegen. An Isografts führt die Erhöhung der Ischämiezeit von einer auf vier Stunden nicht zur verstärkten Ausprägung einer Graft Vessel Disease [410, 173, 228, 435].

Hingegen bedingt eine Ischämiezeit von 24 Stunden an Allografts der Aorta bei Ratten [410], die Erhöhung der Ischämiezeit von 30 Minuten auf eine Stunde an Allografts von Nieren bei Ratten [435] und die Erhöhung von 40 Minuten auf drei Stunden bei Allografts des Herzen an Ratten [173] das Fortschreiten einer Transplantatvaskulopathie. An Allografts der Aorta kann bei Kaninchen [11] und bei Ratten [435] lediglich ein Trend zur Verschlechterung einer Transplantatvaskulopathie bei einer Ischämiezeit von 24 Stunden nachgewiesen werden.

So wurde bisher der Einfluss der Ischämie eher als gering beschrieben [11] mit dem Zusatz, dass die Ischämiezeit durchaus einen immunologischen Schaden verstärken kann [173]. In diesem Zusammenhang werden auch organisatorische und infrastrukturelle Aspekte bei der Herztransplantation immer wichtiger, gerade wenn man bedenkt, dass ein Trend zur weiteren Vergrößerung der Ischämiezeiten in der Klinik erkennbar ist [47, 165].

4.1.3.5 Abstoßungsreaktionen

Hämodynamisch wirksame Abstoßungen werden bei Erwachsenen von einer akuten Mortalität von bis zu 40% begleitet. Sie werden meist definiert durch Abnahme der LVEF (Linksventrikuläre Ejektionsfraktion) um 20 %, der Notwendigkeit einer inotropen Medikation und/oder einem Herzindex von weniger als 2,0 l/min/m². Sie erhöhen das Risiko einer Transplantatvaskulopathie signifikant und bergen eine große Gefahr für das Leben der Patienten [176]. Folglich rücken die verschiedenen immunsuppressiven Medikamente in den Vordergrund.

4.1.3.5.1 Immunsuppression

Bis in die beginnenden neunziger Jahre hinein bestand die standardisierte Dreifachimmunsuppression aus Cyclosporin A (Sandimmun®), Azathioprin (Imurek®) und Prednisolon. Bei unkompliziertem postoperativem Verlauf konnte auf eine steroidfreie Zweifachkombination zurückgegriffen werden. Cyclosporin A beeinflusst jedoch die Funktion der Gefäßwand und wird von einigen Wissenschaftlern als Promoter einer Transplantatvaskulopathie diskutiert [132].

Nach Verabreichung von 60 mg/kg/d über einen Zeitraum von sechs Wochen konnte an der Aorta von Ratten eine deutlich schlechtere Funktion des Endothels und der glatten Muskelzellen festgestellt werden [23]. Durch Gabe von Acetylcholin oder Nitroprussid-Natrium wurden die endothelabhängige und auch die endothelunabhängige Vasodilatation beeinflusst. Die Fähigkeit zur Vasokonstriktion wurde sogar gesteigert. Durch Gabe von Kalzium-Kanalblockern waren diese Erscheinungen aber reversibel [117]. Am Menschen kann nach 37 Monaten keine Beeinträchtigung der Gefäßfunktion beobachtet werden [286], so dass laut diesem Autor lediglich ein Hypertonus folgen kann und die Nierenfunktion von Cyclosporin nachhaltig beeinflusst wird. Die erwünschte therapeutische Dosis liegt im Regelfall bei 3 bis 10 mg/kg/d. Werden weniger als 3 mg/kg/d verabreicht können mehr nicht-virale Infektionen und sogar eine höhere Prävalenz an Todesfällen, bedingt durch Transplantatvaskulopathie, festgestellt werden [397]. Ob nun Cyclosporin A eine CAV begünstigt wird noch kontrovers diskutiert. Die gute Wirksamkeit in der akuten Abstoßung bleibt aber gesichert, jedoch geht man bei chronischen Abstoßungen durch die Aktivierung von Endothelin-1 und die Hemmung von NO von negativen Effekten aus [389].

Bei der Anwendung von Azathioprin steht vor allem die toxische Wirkung auf das Knochenmark und die folgende Leukopenie im Vordergrund [349].

Zusätzlich führen einige Zentren zur Induktionstherapie, Behandlungen mit Antikörperpräparaten wie polyklonalem Antithymozytenglobulin (ATG) vom Kaninchen oder OKT 3 von der Maus durch [253].

Aus oben geschilderten Problemen werden diese Therapieansätze aktuell fortlaufend weiterentwickelt [247] und ein Überblick über die derzeit verbreitetsten Ansätze soll im Folgenden erörtert werden.

4.1.3.5.2 Induktionstherapie

Traditionell wurden hier polyklonale (Antithymozytenglobulin, ATG) oder monoklonale (OKT3) Antikörper eingesetzt. Beide stammen aber aus Kaninchen oder Maus und bieten somit den Nachteil einer Immunantwort und Antikörperbildung beim humanen Empfänger. Aus diesem Grund rückten Basiliximab (chimärischer Antikörper) und Daclizumab (humanisierter Antikörper) ins Blickfeld des Interesses [246]. Bei der Verwendung beider Antikörper zeigte sich eine signifikante Verringerung der akuten Abstoßungsreaktionen. Es konnte kein Unterschied in Bezug auf Inzidenz an Infektionen, lymphoproliferative Erkrankungen oder anderen Komplikationen festgestellt werden. Es zeigte sich aber auch kein positiver Effekt auf das Graft Survival [282, 161, 30, 172, 371].

Zur Induktionstherapie wurde im Klinikum Großhadern ein chimärischer CD4-Antikörper eingesetzt, der sich in einer randomisierten Studie gegenüber ATG als überlegen erwiesen hat [248, 249].

Von der Firma Novartis liegt der angesprochene chimärische, von der Firma Roche ein humanisierter Antikörper gegen Interleukin-2-Rezeptoren vor [253].

Der monoklonale Antikörper des IL-2-Rezeptors mit dem Namen Daclizumab, der schon bei akuten Abstoßungen nach Nierentransplantation eingesetzt wurde, wurde an 42 Patienten nach Herztransplantation getestet [37]. Die Studienteilnehmer bekamen in den ersten 24 Stunden und anschließend im Abstand von zwei Wochen jeweils 1 mg/kg bis acht Wochen nach Transplantation Daclizumab verabreicht. Alle Patienten erhielten auch Cyclosporin A, Prednisolon und Mycophenolat Mofetil. Dieser Antikörper verringerte die Häufigkeit früher Abstoßungen um 25%, verlängerte die Zeitperiode zur ersten Abstoßung und verkleinerte das Ausmaß an zellulärer Reaktion sowie der Produktion von Anti-HLA-Antikörpern. Die Länge des Krankenhausaufenthalts und die mögliche inotropische Medikation konnten ebenfalls verkleinert werden, wodurch Daclizumab durchaus in der Induktionstherapie eingesetzt werden könnte.

4.1.3.5.3 Cyclosporin A (Sandimmun®)

Cyclosporin A muss, um seine immunsuppressive Wirkung entfalten zu können, zuerst an Cyclophilin, ein intrazelluläres Rezeptorprotein, binden. Dieser Komplex reagiert anschließend mit Calcineurin und blockiert einen kalziumabhängigen Aktivierungsschritt, der im Normalfall NF-AT (nuclear factor of activated T-cells) aus dem Zytoplasma zum Kern der Zelle transportiert. Die begonnene Interleukin-2-Produktion und die autokrin stimulierte Proliferation von T-Lymphozyten wird so verhindert [195].

Die Standardbehandlung hinsichtlich der Immunsuppression nach Herztransplantation wurde meist mit einer Kombination aus Azathioprin, Prednisolon und Cyclosporin A durchgeführt. Einige Monate nach der Transplantation werden die Medikamente geringer dosiert und Steroide können gänzlich abgesetzt werden [141].

Ein Hauptproblem beim Einsatz von Cyclosporin ist seine Nephrotoxizität, die bei bis zu 7 % der Patienten zu einem Nierenversagen führen kann [115, 280, 120]. Dieses kann zwar durch Senkung der Dosis vermindert werden [275], dadurch würde jedoch die Inzidenz von akuten Abstoßungen und die der Transplantatvaskulopathie steigen [322, 267].

Außerdem bedingt der Einsatz von Cyclosporin das Ansteigen des Blutdrucks, was aber mit herkömmlicher antihypertensiver Therapie leicht zu behandeln ist [404].

Zahlreiche experimentelle Studien untersuchten die Auswirkung von Cyclosporin auf die Transplantatvaskulopathie [306, 225, 67, 261, 346, 12, 188, 372, 296, 109]. Ergebnisse aus Studien, in denen die Dosis von Cyclosporin entweder aus dem alleinigen Einsatz von Cyclosporin [372, 109, 14, 136] oder in Kombination mit Azathioprin und Methylprednisolon [188] untersucht wurde oder auch aus Studien, die höhere Dosen von Cyclosporin verwendeten [225, 346, 12], zeigten, dass eine wirksame Dosis dieses Medikaments das Vorkommen einer Graft Vessel Disease zu reduzieren vermochte.

Frühe retrospektive Studien kamen dagegen zu widersprüchlichen Ergebnissen [40, 107, 134, 74].

Zwei Untersuchungen beleuchteten den Effekt des Cyclosporins mittels des Intravaskulärem Ultraschall [322, 267]. In der einen konnte bei geringeren Dosen eine Korrelation mit einer Verdickung der Intima $> 3\text{mm}$ nachgewiesen werden [322]. Die andere, eine Multicenterstudie mit 180 Patienten zeigte, dass eine statistisch signifikant geringere Ausprägung der Transplantatvaskulopathie ein Jahr nach Herztransplantation bei Patienten, die mehr als 5 mg/kg am Tag an Cyclosporin erhielten als Patienten, bei denen die Dosis unter 3mg/kg am Tag lag. In den beiden Jahren danach konnte diese statistische Signifikanz nicht aufrechterhalten werden [267].

Vor allem also die experimentellen Studien unterstützen die These, dass Cyclosporin in genügend hoher Dosierung die Transplantatvaskulopathie unterdrückt.

4.1.3.5.4 Tacrolimus (FK 506, Prograf®)

FK 506 wurde erstmals 1989 an der Universität Pittsburgh klinisch nach Herztransplantation eingesetzt und hatte sich dort sowohl in vitro- als auch in vivo-Versuchen als zehn bis 100mal effektiver als Cyclosporin erwiesen [436].

Tacrolimus bindet an das Rezeptorprotein FK-Binding-Protein, besitzt aber einen ähnlichen Wirkmechanismus wie Cyclosporin. Beide Substanzen binden Calcineurin und unterdrücken dessen Phosphataseaktivität [217]. Letztendlich wird die Expression von T-Zell-Aktivator-Genen für Zytokine und deren Rezeptoren gehemmt [376].

Tacrolimus stellt eine hydrophobe Substanz dar, welche vor allem im Jejunum und Duodenum resorbiert wird; weiterhin bindet es an Erythrozyten, wird in der Leber abgebaut und nach nahezu vollständiger Metabolisierung über die Galle ausgeschieden. Es existieren acht aktive Metaboliten [146].

Tacrolimus hat sich in mehreren Vergleichsstudien als potenteres Immunsuppressivum als Cyclosporin erwiesen [304, 251], wobei bei oraler Gabe die individuell sehr unterschiedlich hohe Absorption berücksichtigt werden muss [251].

Darüber hinaus könnte FK 506 einen direkten toxischen Effekt auf Knochenzellen besitzen oder die Sekretion von lokal wirkenden autokrinen Faktoren beeinflussen. Eine indirekte Auswirkung auf die Knochensubstanz durch Modulation von Zytokinen und gonadale Dysfunktion wird ebenfalls diskutiert. Die Rolle von FK 506 auf die Steroidproduktion von Leydigzellen ist noch immer umstritten, wenn auch in der zugrundeliegenden Studie bei 80 % der Patienten ein Rückgang der Testosteronwerte zu beobachten war, was den Knochensubstanzverlust weiter unterstützen würde [368]. Es existieren aber auch Daten, die diesen hemmenden Einfluss von FK 506 auf Testosteronkonzentrationen nicht bestätigen [379]. Zu beachten bleibt jedoch, dass bei mit FK 506 behandelten Patienten der Knochenmetabolismus genau kontrolliert werden sollte, um möglichem Substanzverlust entgegenwirken zu können [368]. Im Vergleich zu Cyclosporin A verschlechtert FK 506 in Kombination mit Mycophenolat Mofetil aber den koronaren Fluss in einem Ein-Jahres-Follow-up [325]. Hier müssen aber weitere Langzeituntersuchungen abgewartet werden.

Im Vergleich zu Cyclosporin A wird aber ein größerer Einfluss auf humorale Immunreaktionen diskutiert [34].

In der FK-506-Heart-Pilot-Study konnte nach einem Jahr kein signifikanter Unterschied zwischen Tacrolimus und Cyclosporin hinsichtlich Abstoßungsanzahl und Überlebensrate erzielt werden. Patienten, die neben FK 506 noch einer Antikörpertherapie unterzogen wurden erreichten die besten Ergebnisse [317]. Die optimale Dosierung und Verabreichungsart muss noch untersucht werden, aber die intravenöse Therapie mit FK 506 könnte in der direkt postoperativen Phase eine Alternative zur Antikörpertherapie darstellen [21, 242].

In einer Untersuchung der Herzchirurgischen Klinik des Universitätsklinikums Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität in München konnte sich FK 506 als Immunsuppressivum in Kombination mit MMF gegen Cyclosporin durchsetzen [244].

4.1.3.5.5 Mycophenolat Mofetil (MMF, Cellcept®)

Mycophenolat Mofetil stellt einen Ester der Mycophenolsäure dar und entfaltet seine Wirkung nach folgendem Prinzip: nicht-kompetitive Hemmung der Inosin-Monophosphatase-Dehydrogenase, das Schlüsselenzym der Umwandlung von Inosin- zur Guanosin-Monophosphatase. Somit wird die De-novo-Synthese von Purinen gehemmt, auf die besonders B- und T-Lymphozyten angewiesen sind [8]. Folglich wird hierdurch die zelluläre und humorale Abwehr gehemmt. Weiterhin ist anzufügen, dass Cellcept® neben der Verminderung der Cytokinsynthese die Glykosylierung von Adhäsionsmolekülen und die Proliferation glatter Muskelzellen blockiert, wonach es der Transplantatvaskulopathie entgegenwirken soll [121].

Mycophenolat Mofetil wird oral verabreicht und nach rascher Resorbierung in Mycophenolsäure umgewandelt. Hauptmetabolit ist das pharmakologisch inaktive Phenoglucuronid. Der Hauptanteil wird im Urin ausgeschieden; ein Teil wird jedoch auch über die Galle entsorgt, wonach es aufgrund des enterohepatischen Kreislaufs sechs bis zwölf Stunden nach Einnahme zum erneuten Anstieg der Plasmakonzentration kommen kann [52].

Im Vergleich mit Azathioprin erzielt Cellcept® eine bessere Überlebensrate nach einem Jahr bei gleicher Anzahl von Abstoßungsreaktionen [252].

An der Herzchirurgischen Klinik des Klinikums Großhadern untersuchte die Arbeitsgruppe um Meiser B. die Auswirkungen von Cellcept® nach Blutspiegelkontrollen in Kombination mit Tacrolimus und Kortikosteroiden bei 30 Patienten [252]. Diese Studie zeigt, dass eine Kombinationstherapie aus Tacrolimus (13-15 ng/ml Talspiegel), Cellcept® (initiale Dosis von 2 g/d und nachfolgend zwischen 2,5 und 4,5 µg/ml) und Steroiden keine akute Abstoßung nach Herztransplantation zulässt, wenn Mycophenolat Mofetil und Tacrolimus in den eben genannten Konzentrationen verabreicht werden. Darüber hinaus erlaubt dieses Vorgehen ein Absetzen der Steroide nach sechs Monaten.

Es muss jedoch beachtet werden, dass manche Patienten aufgrund eines schnelleren Metabolismus höhere Initialdosen an Mycophenolat Mofetil benötigen und es im Verlauf wohl sinnvoll erscheint, häufigere kleine Dosen zu verabreichen, um toxische Nebenwirkungen wie gastrointestinale Beschwerden zu vermeiden [345]. Auch andere Autoren bevorzugen mehrere kleine Dosierungen, um toxische Nebenwirkungen zu minimieren [76].

Eine Arbeitsgruppe aus Stanford unterstreicht die Vorteile der Blutspiegelkontrollen und zeigt, dass nicht nur Lymphozyten in ihrer Proliferation gehemmt werden, sondern auch Rezeptoren an der Zelloberfläche durch Cellcept® vermindert exprimiert werden [124].

In einer dreijährigen Studie verbessert Mycophenolat Mofetil die Überlebensrate von 650 Patienten signifikant im Vergleich zu Azathioprin [180].

Auf die Möglichkeit MMF im Zuge der Umstellung auf calcineurin-inhibitor-(CI)-freie Immunsuppression einzusetzen, wird im folgenden Kapitel eingegangen.

4.1.3.5.6 Rapamycin (Sirolimus, Rapamune®)

Schon Ende der achtziger Jahre wurde Rapamycin erfolgreich im Tierexperiment nach Herztransplantation eingesetzt [254, 269].

Rapamycin und Tacrolimus stellen beide Makrolidantibiotika dar und binden an das FK-Binding Protein. Sirolimus greift jedoch später in die Aktivierungskaskade des Immunsystems ein als Tacrolimus und blockiert die Proliferation von T-Helferzellen, zytotoxischen T-Zellen und B-Zellen in der späten G1-Phase des Zellzyklus [376].

Rapamycin besitzt eine Halbwertszeit von 60 Stunden und wird nach oraler Verabreichung schnell resorbiert [432].

In Kombination mit Cyclosporin zeigten sich niedrige und hohe Dosen von Rapamycin bei der Behandlung von Abstoßungsreaktionen vom Grad 2 oder höher erfolgreich. Darüber hinaus besitzt Rapamycin hemmende Wirkung auf Transplantatvaskulopathie und obliterative Bronchiolitis [121, 243, 245]. Auch bei dieser Substanz korrelieren die Konzentrationen mit der protektiven Wirkung gegen eine Transplantatvaskulopathie, in dieser Studie im Versuch am Affen demonstriert [145].

Ein Erklärungsansatz beschreibt, dass diese Substanz die lokale Konzentration an NO deutlich erhöht [418].

Im Mai 2001 stellte die Arbeitsgruppe um Xiao-Shi in Chicago (Kongress „Transplant 2001“ der American Society of Transplant Surgeons und der American Society of Transplantation) eine Arbeit vor, im Zuge welcher 22 Patienten nach orthotoper Herztransplantation zusätzlich zu Tacrolimus und Steroiden entweder MMF oder Sirolimus erhielten. Im Vergleich zur MMF-Gruppe traten bei Verwendung von Sirolimus im Zeitraum von 6 Monaten signifikant weniger Abstoßungsreaktionen auf (0,77 gegenüber 1,33 Episoden pro Patient). Die Spiegel von Tacrolimus konnten in der Sirolimus-Gruppe deutlich abgesenkt werden (von 17 ng/ml auf 10 ng/ml, $p = 0,025$). Darüber hinaus zeigten auch die Kreatininwerte eine Verbesserung [430].

Johnson et al untersuchten im Jahr 2001 die Möglichkeit nach Nierentransplantation und einer dreimonatigen Immunsuppression mit Cyclosporin A, Sirolimus und Steroiden, die Auswirkungen der Beendigung der Cyclosporin-Medikation. Nach einem Jahr zeigten sich keine Unterschiede im Graft-Survival (95,8 % gegenüber 97,2 %) und im Überleben (97,2 % gegenüber 98,1 %). Vor Randomisierung betrug die Inzidenz an biopsiekontrollierten akuten Abstoßungen 13,1 %. Nach Randomisierung 4,2 % und 9,8 % ($p = 0,035$). Die Nierenfunktion konnte signifikant verbessert werden (Glomeruläre Filtrationsrate 57 ml/min gegenüber 63 ml/min, $p < 0,01$) und der Blutdruck konnte ohne Verabreichung von Cyclosporin A gesenkt werden. Ein zu hoher Blutdruck, Cyclosporin-Nephrotoxizität, Hyperurikämie und Herpes-Zoster-Infektionen werden öfter in der Cyclosporin-Gruppe beobachtet, wobei Thrombozytopenie, erhöhte Leberwerte und Hypokaliämie vor allem bei den Patienten ohne Cyclosporin auftreten [155].

Als Nebenwirkungen konnten folgende unerwünschte Wirkungen in einem Zeitraum von 24 Monaten im Vergleich zu einem Placebopräparat identifiziert werden [160]:

- Diarrhoe ($p = 0,027$)
- Anämie ($p < 0,001$)
- Thrombozytopenie ($p < 0,001$)
- Hypercholesterinämie ($p < 0,001$)
- Hyperlipidämie ($p < 0,001$)
- Epistaxis ($p < 0,001$)
- Lymphozele ($p = 0,023$)
- Unspezifischer Hautausschlag ($p < 0,001$)

Sirolimus wird derzeit an der Universität München in Umstellungstudien in Kombination mit Mycophenolat Mofetil (MMF) eingesetzt, mit dem Ziel, eine calcineurin-(CI)-inhibitor-freie Immunsuppression zu gewährleisten. Im Zuge dieser Studie wurden bisher 20 herztransplantierte Patienten (15 Männer, 5 Frauen; 0,2 bis 15,2 Jahre nach Transplantation) mit CI-basierter Immunsuppression (plus MMF) und Kreatininwerten >2.0 mg/dl auf das Schema Sirolimus und MMF umgestellt. Sirolimus wird oral am Tag 1 mit 6 mg begonnen, am Tag 2 mit 2mg fortgesetzt und anschließend nach Talspiegel (10-14 ng/ml) dosiert. Gleichzeitig werden die CI ausgeschlichen. Es konnte bisher im Laufe der Studie keine akute Abstoßungstherapie beobachtet werden. Die Nierenfunktion konnte von $3,04 \pm 0,98$ mg/dl auf $2 \pm 0,98$ mg/dl, ($p=0,003$) verbessert werden. Drei Patienten, welche vor Konversion dialysiert werden mussten, sind derzeit nicht mehr dialysepflichtig. Eine Beeinträchtigung der Grafffunktion konnte nicht beobachtet werden [122].

Weiterhin wird Sirolimus an der Universität München in Kombination mit Tacrolimus eingesetzt zur De-novo-Immunsuppression nach Herztransplantation. Prospektiv werden 33 Patienten eingeschlossen (durchschnittliches Empfängerralter 52 ± 11 Jahre, durchschnittliches Spenderalter 35 ± 14 Jahre). Prednisolon wird nach 6 Monaten abgesetzt. Im Laufe der Untersuchung kommt es bisher lediglich zu einer akuten Abstoßungsreaktion (AAR, 54 Tage nach Transplantation, 0,008 AAR / 100 Pt.Tagen) aufgrund von Nichteinnahme der Medikation. Kein Patient verstarb während der Studie. Weiterhin wurde die Medikation gut vertragen bei nicht signifikanten temporären Nebenwirkungen wie unspezifischen Hautveränderungen (Akne) und vorübergehende Neigung zu Perikardergüssen. Die Kombination dieser beiden Immunsuppressiva ermöglichte es also, dass beide Medikamente geringer dosiert werden konnten als in anderen Schemen (durchschnittliche Talspiegel liegen bei Tacrolimus bei $8,3 \pm 1,7$ und bei Sirolimus bei $6,3 \pm 1,0$ ng/ml) und somit weniger Nebenwirkungen auftreten. Die Inzidenz an Infektionen war vergleichbar mit der in anderen Kombinationen. Die Konzentrationen des Gesamtcholesterin, der Triglyceride und des LDL lagen in angemessenen Bereichen. Gefolgert wurde, dass diese Kombination eine sehr sichere und nebenwirkungsarme Alternative zu Immunsuppression darstellt [277].

Als Zusammenfassung kann dargelegt werden, dass Sirolimus in der Nierentransplantation bei gleichzeitiger Gabe von Cyclosporin zu einer deutlichen Senkung der Inzidenz von akuten Abstoßungsreaktionen führt, dass ein synergistischer Effekt mit Cyclosporin nachgewiesen wird und somit die Substanz Sirolimus bei hoher immunsuppressiver Potenz, bekanntem und dosisbezogenem Nebenwirkungsprofil und der Möglichkeit die Nierenfunktion nachhaltig zu beeinflussen [160], auch und gerade in der Herztransplantation ein Immunsuppressivum der Zukunft darstellen kann.

4.1.3.6 Transforming Growth Factor β 1 (TGF- β)

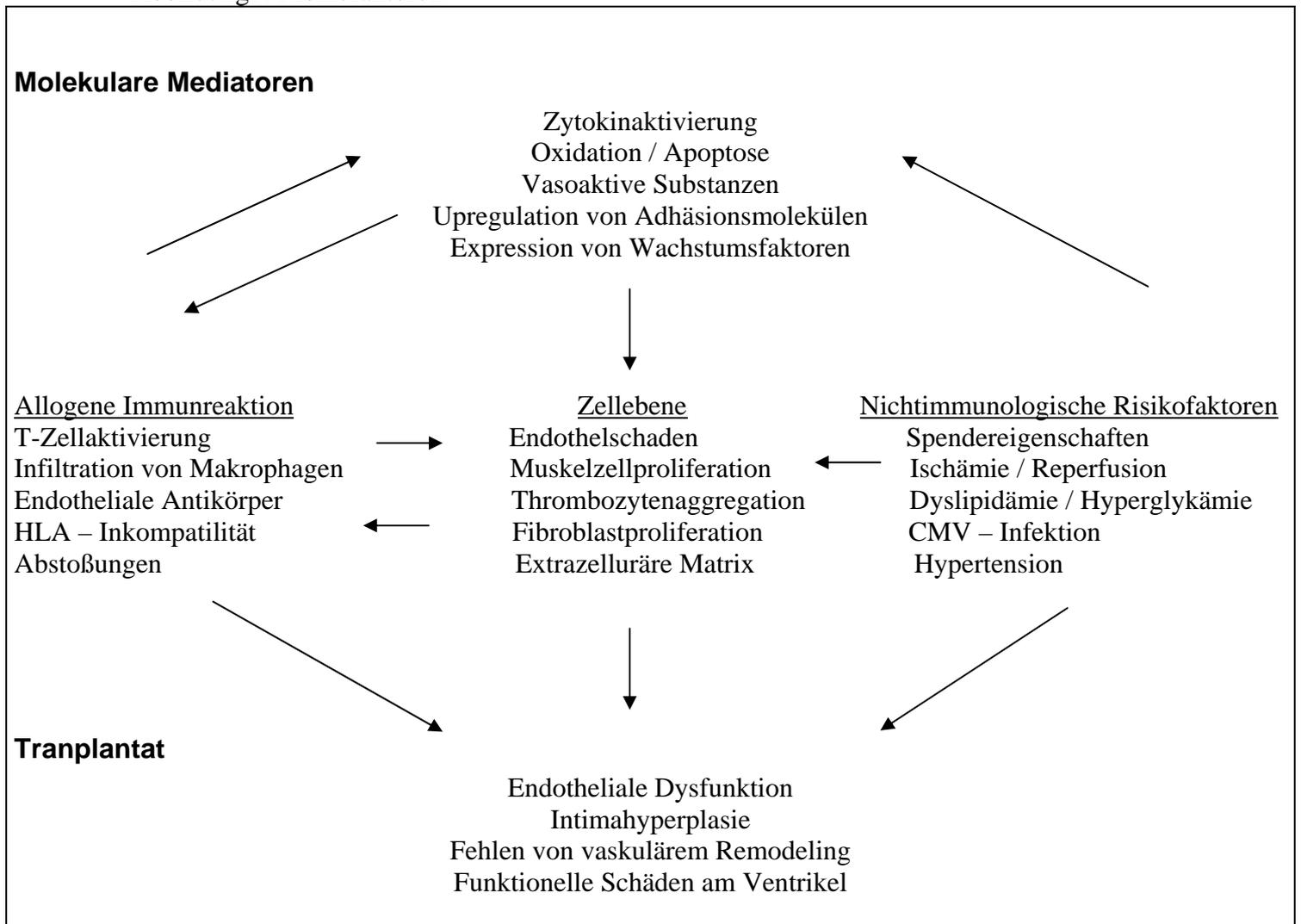
Der Transforming Growth Factor β 1 beeinflusst das Remodeling, indem er die Mitose von glatten Muskelzellen, die Produktion von extrazellulärer Matrix und die Bildung von anderen Wachstumsfaktoren reguliert. Folglich erscheinen niedrige Mengen an TGF- β protektiv gegen eine Transplantatvaskulopathie. An Position 25 wurde ein genetischer Polymorphismus festgestellt, der die Intensität der Zytokinproduktion beeinflusst. Patienten wurden entweder als high oder low producers bezüglich dieses Polymorphismus eingeteilt. Die Gruppe der high producers entwickelte früher in der Angiographie sichtbare Zeichen einer Vaskulopathie, womit TGF- β bzw. seine Abwesenheit nicht nur zu diagnostischen oder prognostischen Aussagen, sondern auch in der Therapie genutzt werden könnte [77]. Eine Arbeitsgruppe aus Deutschland liefert hierzu widersprüchliche Daten und stellt dar, dass der obengenannte Polymorphismus keinen Einfluss auf Schwere oder Fortschreiten der CAV besitzt [302]. Einigkeit herrscht aber über die Tatsache, dass TGF- β eine Rolle in der Pathogenese der Transplantatvaskulopathie spielt [73].

4.1.3.7 Antithrombin III

Prof. C. A. Labarrere zeigte an 121 Patienten nach Herztransplantation die protektive Wirkung von Antithrombin III. In allen Biopsien der Spenderherzen befand es sich in Arterien und Venen, nicht aber in Kapillaren. Früher und andauernder Verlust, Antithrombin zu binden, führte zu früherer Entwicklung, schnellerer Progression der Vaskulopathie und zu mehr Herzversagen. Konnte nach einer Zeit aber sogar in den Kapillaren Antithrombin gebunden werden, werden die Ergebnisse eindeutig hinsichtlich Entwicklung und Progression einer CAV verbessert [57].

In der folgenden Abbildung sollen noch einmal alle möglichen Risikofaktoren und die Konsequenzen dargestellt werden [416, modifiziert nach 93].

Abbildung 1: Risikofaktoren



4.2 Diagnosestellung

4.2.1 Nichtinvasive Screeningmethoden

Derartige Tests wie z.B. das Belastungs-EKG, die Thalliumszintigraphie, die Dobutamin-Stressechokardiographie und das herkömmliche EKG sind weder sensitiv noch spezifisch genug [358]. In Bezug auf das Belastungs-EKG gehen die wissenschaftlichen Meinungen jedoch auseinander [2, 61].

Lediglich mittels Dobutamin-Stressechokardiographie schien der Ausschluss einer Transplantatvaskulopathie nach Spes und Mitarbeiter mit ausreichend hoher Spezifität möglich zu sein [362]. Diese Untersuchung könnte vor allem als erste Diagnostik herangezogen werden und bei normalen Ergebnissen die invasiven Tests bis zu etwa zwei Jahren ersetzen. Das Hauptproblem besteht jedoch darin, dass sie nur nach einwandfreiem konventionellem EKG eingesetzt werden kann und darf. Die Kombination mit einer Myokardszintigraphie wird derzeit untersucht [361].

4.2.2 Koronarangiographie

Die Koronarangiographie hat sich sehr wohl als spezifisch aber nicht als sensitiv genug erwiesen, eine Transplantatvaskulopathie zu diagnostizieren, wodurch falsch negative Ergebnisse häufig sind. Diese geringe Sensivität wurde, ausgenommen deutliche fokale Stenosen, in histopathologischen Studien [153] und im Vergleich mit intrakoronarem Ultraschall [113] bewiesen.

Dies mag daran liegen, dass bei einer schweren Intimaverdickung das gefäßeigene Remodeling in Aktion tritt. Weiterhin fehlt im seltenen Fall einer homogenen Intimaproliferation ein Referenzgefäß zum Vergleich.

Ebenso kann keine Korrelation zwischen einer CAV und der Auswurffraktion des linken Ventrikels gefunden werden [342]. Das Vorhandensein einer deutlichen epikardialen Koronarstenose erlaubt aber eine hohe Spezifität leider mit einer schlechten Prognose für den Patienten [182]. Angiographisch verdächtige Bezirke zeigen nicht nur Veränderungen im Volumen an, sondern auch in Bezug auf die Form der Plaques [415].

Es lassen sich drei Grundtypen der Transplantatvaskulopathie unterscheiden:

- a) Eine diffuse Obliteration mit Seitenastrefizierung und Verdämmerung bzw. Abbrüchen von Endästen aufgrund einer Lumenreduktion infolge homogener Intimaproliferation.
- b) Häufiger anzutreffen sind proximal betonte, fokale Stenosen, welche mit der herkömmlichen Arteriosklerose bei Koronarkrankheit vergleichbar sind. Im längeren Verlauf ist eine Mischung aus proximal fokaler und distal diffuser Transplantatvaskulopathie typisch.
- c) Weiterhin kann eine nichtobliterierende, dilatierende Angiopathie beobachtet werden [154].

4.2.3 Intrakoronarer Ultraschall (ICUS, IVUS)

Diese Technik erlaubt sowohl Aussagen über den aktuellen Lumendurchmesser im Gefäß als auch über die Dickenverhältnisse von Intima und Media [415]. In einer Studie mit 132 Patienten wird bei hauptsächlich proximal betroffenen Segmenten in 80 % der Fälle nach 1 bis 9 Jahre nach Transplantation eine Arteriosklerose festgestellt. Diffuse und randständige Plaques werden in mehr distalen Segmenten gefunden [392]. Tuzcu et al beschrieben auftretende Arteriosklerose in 56 % bei Empfängern ein Monat nach Transplantation, was als "Donor Transmitted Disease" verstanden wurde [393]. Diese Studien lassen den Schluss zu, dass die Transplantatvaskulopathie von zwei Ursprüngen ausgeht:

- a) Frühe, auf den Spender zurückzuführende Plaques in proximalen Segmenten.
- b) Diffuse und konzentrische Formen in distalen Segmenten als Folge einer Immunreaktion nach Endothelverletzung [415].

Botas et al stellten heraus, dass eine vorbestehende Koronarerkrankung nicht das Fortschreiten einer Transplantatvaskulopathie in den ersten Jahren nach Transplantation begünstigt [45].

In der ersten prospektiven, multizentrischen, intrakoronaren Studie mit 299 Patienten kam zum Ausdruck, dass die Intimaverdickung vor allem im ersten Jahr nach Transplantation deutlich zunahm, gefolgt von einem langsamen Fortschreiten. Werden in Zukunft mehr Vaskulopathien mittels Angiographie sichtbar, kann dieser Frage anschließend ein ICUS noch deutlicher auf den Grund gehen [324]. In einer Studie zum Wert der mit ICUS gefundenen Daten zeigten Mehra et al auf, dass Patienten mit einer schweren Intimaverdickung zehnmal häufiger unter kardialen Symptomen zu leiden hatten als Patienten ohne schwere Hyperplasie [240]. Weil aber viele Patienten frei von klinischen Beschwerden blieben, müssen zusätzliche Studien die Qualität und nicht nur die Quantität der Intimaproliferation untersuchen, genauso wie das angesprochene kompensatorische Remodeling, um Aussagen über das Auftreten von bis zu tödlichen klinischen Ereignissen treffen zu können.

Die Frage, ob der ICUS der Angiographie mit Augenmerk auf die daraus folgenden therapeutischen Konsequenzen überlegen ist (ausgenommen Studien zur Evaluation von antiproliferativen Strategien), blieb deshalb unbeantwortet. Die Standardisierung der vorgefundenen Verdickungen und die Definition einer pathologischen Proliferation stellen beim ICUS noch Probleme dar [415].

Der intravaskuläre Ultraschall vermochte, wie schon angesprochen, vor allem frühe Veränderungen zu diagnostizieren. So kann er auch die Rolle des Hirntodes auf die Progression einer Transplantatvaskulopathie mit aufklären [227]. Der plötzlich eintretende Gehirntod geht meist mit einer Steigerung des intrakraniellen Drucks einher (in dieser Studie nach Schussverletzung, geschlossenem Schädel-Hirn-Trauma oder Blutung), was einen Stimulus für MHC-I- und -II-Antigene und für CO-stimulierende Moleküle bedeutet und so die Immunbereitschaft des transplantierten Herzens steigert. Der intravaskuläre Ultraschall vermag zu zeigen, dass ein solcher Hirntod zu einer deutlicheren Intimaproliferation und zu mehr klinischen Ereignissen führt.

Besonders bei unauffälligen Angiographien kann diese Ultraschalluntersuchung prognostisch wertvolle Daten liefern, wobei auch der Body Mass Index zu beachten ist [170].

Der ICUS oder IVUS stellt abschließend die einzige Möglichkeit dar, den Vorgang des Remodelings in vivo darzustellen, wodurch die geringere Sensitivität der Angiographie erklärt wird [171].

Die Diagnostik mit ICUS birgt auch nur ein sehr geringes Risiko schwerer Nebenwirkungen wie z.B. Sterblichkeit oder Myokardinfarkt in sich [305].

4.2.4 Epikardiale Endothelfunktion

Die Folgen einer epikardialen endothelialen Funktionsstörung, die häufig bei Patienten nach Herztransplantation beobachtet wird, sind immer noch unklar [96, 128]. Das Vorhandensein von intaktem Endothel lässt aber den Schluss zu, dass es sich nicht um eine diffus auftretende Störung bei allen Patienten nach Transplantation handelt und die endotheliale Funktion nicht irreversibel geschädigt ist [412]. Es ist bekannt, dass Antikoagulantien, welche vom intakten Endothel produziert werden, eine wichtige Rolle im homöostatischen Gleichgewicht spielen, und dass eine abgeschwächte Fibrinolyse zur Entwicklung einer CAV beiträgt [199]. Stickstoffmonoxid stellt, wie schon angesprochen, eine antimitogene, antiproliferative Substanz dar mit zusätzlichen antioxidativen Effekten und ist folglich involviert in den Prozess einer Intimaverdickung [422]. Davis et al zeigten auf, dass eine frühe endotheliale Dysfunktion der Entwicklung einer im ICUS sichtbaren Transplantatvaskulopathie ein Jahr nach Transplantation vorausgeht [71]. Weiterhin wiesen Yeung et al darauf hin, dass die frühzeitige Dysfunktion eine schlechtere Klinik erwarten lässt [433]. Andere Autoren veröffentlichen, dass die frühpostoperative Endotheldysfunktion derart häufig vorgefunden wurde, dass sie nicht prädiktiv für das Auftreten einer Transplantatvaskulopathie im weiteren Verlauf ist [285].

1999 konnten Weis und Mitarbeiter einen Zusammenhang zwischen erhöhter Expression an mRNA für myokardiales Endothelin (nicht aber für die mRNA der NO-Synthase) und dem Auftreten einer Intimaverdickung und der epikardialen Dysfunktion deutlich machen [417]. Möglicherweise wurde sie durch den zusätzlichen Ischämierperfusionschaden bedingt und ihre Prävalenz nahm im weiteren Verlauf zunächst ab. Eine Abhängigkeit vom Zeitintervall seit Transplantation oder vom Vorliegen angiographischer Wandunregelmäßigkeiten wurde für eine acetylcholininduzierte paradoxe epikardiale Vasokonstriktion überwiegend nicht gefunden [15, 329].

Am Klinikum Großhadern führte eine Studie zur Annahme, dass der Lipdstatus des Patienten nach Transplantation das Fibrinogen eher von sekundärer Bedeutung für die Endothelfunktion sei [414]. Dies stand im Kontrast zum Verständnis der Pathogenese der herkömmlichen Arteriosklerose.

Durch Antagonisten am Endothelin-A- und am Endothelin-B-Rezeptor konnte der Reperfusionsschaden und die daraus resultierende Endotheldysfunktion deutlich positiv beeinflusst werden [377].

Schlussendlich bestand kein Zusammenhang zwischen mikrovaskulärer und epikardialer Dysfunktion und bei vorhandener Dysfunktion sind noch vollkommen funktionsfähige Bereiche vorhanden, was auf eventuelle Reversibilität hinwies. Die Endotheldysfunktion stellte auf keinen Fall eine komplette Störung aller Gefäße dar, wobei Folgen und Auswirkungen noch genauer untersucht werden müssen. Feststand, dass die Einschränkung der Vasodilatation das Risiko von kardialen Ereignissen erhöht [289]. Diese vasodilatatorischen Störungen sind auch abhängig vom Vorhandensein konventioneller Risikofaktoren der Arteriosklerose [419].

4.2.5 Intrakoronare Doppleruntersuchung und koronare Mikrozirkulation

Diese Untersuchung stellt eine Methode dar, um die Qualität der Mikrozirkulation festzustellen. Verminderung der Mikrozirkulation führt zu einem Kleinerwerden der koronaren Flussreserve und auf diese sollte nach Herztransplantation geachtet werden [391, 284], obwohl widersprüchliche Daten vorhanden waren bezüglich des Langzeiteffektes sogar, wenn flusslimitierende epikardiale Stenosen fehlten [129, 391, 284, 279]. Eine reduzierte Flussreserve geht wohl auf strukturelle Änderungen des Myokards zurück als Folge von subklinischen Abstoßungsreaktionen und von der Entwicklung einer linksventrikulären Hypertrophie oder sie kann durch eine CAV bedingt sein, welche die Mikrozirkulation beeinflusst. Bis zum jetzigen Zeitpunkt sind Inzidenz, Pathogenese (vom Endothel abhängig oder nicht) und die Folgen der mikrovaskulären Dysfunktion noch relativ wenig bekannt [415]. In einer Studie von Weis et al, bei der die Dysfunktion als verminderte, vom Endothel abhängige, koronare Flussreserve definiert wurde, konnte jene Dysfunktion mit einer folgenden Reduktion der linksventrikulären Auswurfraction während eines Zwei-Jahres-Follow-Up in Verbindung gebracht werden [413]. Auf diese Weise konnte die verminderte Flussreserve zu subendokardialer, linksventrikulärer Ischämie führen, die folgend die Funktion des linken Ventrikels beeinflusste [405]. Am Klinikum Großhadern wurde die Dilatationsfähigkeit epikardial und mikrovaskulär bei 110 Herztransplantatierten nach 1-160 Monaten nach Operation untersucht und es kann kein Zusammenhang zwischen epikardialer und mikrovaskulärer Endothelfunktion festgestellt werden, noch konnte eine Korrelation zwischen vasomotorischer Funktion und epikardialer Intimahyperplasie herausgestellt werden. In diesem Krankengut wies etwa die Hälfte der Patienten eine epikardiale Manifestation der Erkrankung auf, ein Drittel der Patienten eine mikrovaskuläre Manifestation. Lediglich bei einem Fünftel der Patienten traten epikardiale und mikrovaskuläre Veränderungen gemeinsam auf [338].

4.2.6 Endomyokardiale Biopsie

Da auch intramyokardiale Gefäße von der Transplantatvaskulopathie betroffen sind, kann ebenfalls die Biopsie Aufschlüsse über das Vorhandensein oder das Fortschreiten dieser Erkrankung liefern. So konnte zum Beispiel Fibronektin immer dort, wo endotheliale Abnormitäten oder eine Intimaverdickung vorhanden waren, nachgewiesen werden [223].

4.2.7 Prophylaxe und Therapie

Hierunter können zusammengefasst werden immunsuppressive, konventionell medikamentöse oder antiproliferative Ansätze, sowie die Koronarinterventionen und als letzte Möglichkeit die Replantation [253].

4.2.7.1 Immunsuppressive Medikation

Bei Cyclosporin A ließ sich ein ähnlich günstiger Effekt wie bei der Suppression myokardialer Abstoßungsreaktionen in der Verhütung der Transplantatvaskulopathie nicht eindeutig nachweisen. Es sind unterschiedliche Ergebnisse durch Studien belegt. Jedoch waren höhere Cyclosporindosierungen mit geringeren kardialen Ereignissen im Rahmen einer GVD verbunden. Prednisolon dagegen besaß einen eindeutig ungünstigen Einfluss [239]. Akut erhöhte die Verabreichung von Cyclosporin die Aktivität von NO, was der CyA-assoziierten Vasokonstriktion entgegenwirkte [374] und es kam zu einer Verminderung der Apoptose in Endothelzellen [408]. In Studien am Patienten korrelierten Dosen von mehr als 3mg/kg/d mit einer geringeren notwendigen Dosis an Steroiden und einer geringeren Prävalenz der GVD [397, 239].

Bei den neueren Immunsuppressiva widersprechen sich teilweise die bisher vorhandenen Ansätze. So konnte Tacrolimus im Tierversuch einerseits als Förderer [18, 243, 245], aber auch als Inhibitor einer Transplantatvaskulopathie [428] auftreten. Im Vergleich zu Cyclosporin konnte Tacrolimus in einem vierjährigen Verlauf keine Differenz im Ausmaß der GVD aufweisen [304], jedoch korrelierte Tacrolimus möglicherweise mit der häufigeren frühpostoperativen Endotheldysfunktion [411].

Die Kombination von Tacrolimus und Mycophenolat Mofetil aber schien gegenüber dem Einsatz von Tacrolimus und Azathioprin protektiv bei Endotheldysfunktion zu wirken [418]. In einer randomisierten, doppelblinden Multicenterstudie konnte die Kombination von CyA und MMF die 1-Jahres-Mortalität (folglich nicht vorrangig durch eine GVD bedingt) nach Herztransplantation um bis zu 35 % im Vergleich zu CyA und Azathioprin [180] senken. Ebenfalls unterschiedliche Ergebnisse existieren bezüglich der Effekte von Mycophenolat-Mofetil auf die Intimaproliferation [121, 131]. Rapamycin, 15-Desoxyspergualin und Leflunomide stellten sich als eindeutiger antiproliferativ im Tierversuch heraus. In anderen immunsuppressiven Ansätzen wurden spezifische Antikörper zum Beispiel gegen den Interleukin-2-Rezeptor oder ICAM-1 eingesetzt. Die kostimulatorische T-Zell-Aktivierung konnte im Tierversuch mittels CTLA 4Ig blockiert werden mit nachfolgend geringerer Ausprägung der Transplantatvaskulopathie [332]. In der klinischen Praxis wird aber noch kein Immunsuppressivum mit eindeutig bewiesenem Nutzen hinsichtlich der Prävention der Transplantatvaskulopathie routinemäßig eingesetzt [253].

4.2.7.2 Konventionelle medikamentöse Therapieansätze

Diltiazem konnte unter den Calciumantagonisten in einem zweijährigen Verlauf im Vergleich zum Placebo eine geringere koronare Lumendurchmesserabnahme nachweisen. Darüber hinaus konnte eine signifikant verbesserte Überlebensrate beobachtet werden [347].

ACE-Hemmer besaßen einen ähnlichen Effekt bezüglich der Intimaproliferation, wahrscheinlich aufgrund der Inhibierung der lokalen Angiotensin-II-Bildung, sowie die lokale Erhöhung der Bradykininkonzentration mit Aktivierung des L-Arginin-NO-Weges [241].

Calciumantagonisten und ACE-Hemmer sind nach derzeitiger Meinung in der Lage, die Endothelfunktion zu erhalten und glatte Muskelzellen an der Migration und Proliferation zu hindern [416].

Durch den HMG-CoA-Reduktase-Inhibitor Pravastatin wurde in einem einjährigen Verlauf nach Transplantation im Vergleich zum Placebo eine signifikant geringere Intimaproliferation mittels intravaskulärem Ultraschalls nachgewiesen [174]. Durch Pravastatin konnte eine Abnahme der Häufigkeit schwerer Abstoßungsreaktionen und eine verbesserte Überlebensrate nach einem Jahr nachgewiesen werden. Ähnliche Daten wurden am Klinikum Großhadern mit dem HMG-CoA-Reduktase-Hemmer Simvastatin erreicht: experimentell ließ sich eine Hemmung der Transplantatvaskulopathie nachweisen [256], im Patientenkollektiv konnte in einem Vier-Jahres-Verlauf eine signifikante Reduktion der Letalität, der angiographischen Prävalenz der GVD und der Häufigkeit von Abstoßungen gezeigt werden [302, 420, 421]. Weiterhin scheint bei Patienten mit ausgeprägter Hypercholesterinämie eine Prävention der Transplantatvaskulopathie durch die Kombination von Simvastatin und der HELP-Apherese möglich zu sein [149, 255].

Besonders die HMG-CoA-Reduktase-Hemmer wiesen neben der Cholesterinsenkung immunmodulatorische Effekte auf, welche durchaus bei der Transplantatvaskulopathie Bedeutung erlangen [415].

Darüber hinaus zeigten Stapleton et al 1997 ähnliche Effekte mit Gemfibrozil, einem Lipidsenker ohne Einfluss auf das Immunsystem [366].

4.2.7.3 Experimentelle Ansätze

Denkbar sind auch Verfahren zur Blockung der Expression von Wachstumsfaktoren oder Zytokinen, zur Eliminierung von HLA-Antigenen oder Anti-HLA-Antikörpern, die Photopherese, sowie der Einsatz von niedermolekularem Heparin oder Östradiol [315, 327, 139, 29, 222].

Auch am Einsatz des Gentransfers wird derzeit gearbeitet [356, 143]; so wird z.B. der Einfluss von protektiven Genen wie HO-1, Bcl-xL und A20 in glatten Muskelzellen und Endothelzellen untersucht [126].

Resultate von Iwata et al zeigten, dass die intraoperative Gengabe von NO-Synthase die Leukozyteninfiltration im Spenderorgan verringern kann [147].

Entscheidend für alle dieser hier genannten Ansätze wird sein, ob der optimale Zeitpunkt für ihren Einsatz gefunden wird, der wohl unmittelbar zum Zeitpunkt der Transplantation liegt.

4.2.7.4 Koronarinterventionen

Ein derartiges Vorgehen (PTCA und / oder Stentimplantation) ist bei fokalen Stenosen mit exzellenter Primärerfolgsrate ohne eine Erhöhung der Komplikationsrate möglich [125, 341]. Es besteht jedoch eine erhöhte Restenoserate, die ebenso wie die Progression der Erkrankung in nicht dilatierten Gefäßabschnitten den Langzeitnutzen der Intervention limitiert. Eine Bypass-Operation kann bei Vorliegen höchstgradiger proximaler Stenosen aller drei Äste sinnvoll werden [415], wird aber meist wegen des zu hohen Operationsrisikos nicht angewendet. Als weiteres Verfahren wurde die koronare Atherektomie beschrieben [150].

Die bisher genannten Interventionsmöglichkeiten stellen aber bei dem möglichen rapiden Verlauf und dem diffusen Erscheinungsbild der Erkrankung nur eine Möglichkeit zur kurzfristigen Verbesserung dar [125].

Nach Ausschluss der oben genannten Interventionsmöglichkeiten besteht noch die Möglichkeit der transmyokardialen Revaskularisierung [231].

4.2.7.5 Knochenmarktransplantation

An den Universitäten von Pittsburgh und Miami wurde ein Modell entwickelt, in welchem Knochenmark des Spenders zeitgleich mit Lungen- oder Herztransplantation appliziert wird. Bei den 39 Patienten, die sich einer Herztransplantation unterzogen, wird eine geringere Anzahl von Abstoßungen dokumentiert, was auf eine Modulation des Immunsystems im Empfänger hinweist [232].

4.2.7.6 Retransplantation

Schlussendlich stellt die Retransplantation derzeit die einzige kurative Behandlung der Transplantatvaskulopathie dar [108].

Wird eine Retransplantation ins Auge gefasst, muss die zur Ersttransplantation schlechtere Prognose beachtet werden [88]. Auch muss die sehr limitierte Organverfügbarkeit bedacht werden, was zu einer nicht unproblematischen Einzelfallentscheidung führt. Der richtige Zeitpunkt für eine Retransplantation ist nur sehr schwer abzuschätzen, da selbst schwerste Fälle der Transplantatvaskulopathie nicht mit einer Einschränkung der Ventrikelfunktion einhergehen [166].

Hat man sich für eine Retransplantation entschieden, so sollten folgende Kriterien als optimale gelten, um eine zur Ersttransplantation gleichwertige Überlebensrate zu erreichen [88, 152]:

- Insuffizienz des Herzens seit mehr als sechs Monaten
- Keine maschinelle Unterstützung vor Retransplantation notwendig
- Kein Multiorganversagen
- Kreatininkonzentration <2,0 mg/dl
- Geringer Grad an Sensibilisierung
- Negatives Crossmatch

Weiterhin soll angemerkt werden, dass Infektionen, Abstoßungen und das eigentliche Vorkommen der Transplantatvaskulopathie nicht häufiger nach der Re- als nach der Ersttransplantation sind, sehr wohl aber die Möglichkeit der malignen Folgeerkrankungen (etwa doppelt so häufig) [88, 359].

4.2.7.7 Antiproliferative Therapieansätze

Hier konnte zum Beispiel die Erhöhung der NO-Konzentration durch Gabe des NO-Vorläufers L-Arginin oder durch Hemmung eines durch Sauerstoffradikale verstärkten NO-Abbaus [79, 213, 220] in Betracht gezogen werden. Protektive Effekte bezüglich des Erhalts der Endothelfunktion und Prävention der Intimaproliferation waren hier im Tierversuch bereits nachweisbar [415].

Auch die Inhibierung von Endothelin, einem potenten Vasokonstriktor, wurde seit 1998 an der Ratte untersucht [289].

Auch Oligodesoxynukleotide gegen PCNA und CDC-2k, Proteine, die für die DNS-Replikation und für das Voranschreiten des Zellzyklus verantwortlich sind, konnten die Proliferation von glatten Muskelzellen verhindern [87].

Eine Inhibition der Intimaproliferation nach Herztransplantation konnte erst experimentell [257] und später auch klinisch durch eine zeitlich limitierte peri- und frühpostoperative Gabe von Angiopeptin, einem Somatostatinanalogon, nachgewiesen werden [250]. In einem durchschnittlich 32-monatigen Verlauf konnte mittels intravaskulärem Ultraschall in der Therapiegruppe eine wesentlich geringere Intimaverdickung im Vergleich zum Placebokollektiv nachgewiesen werden [415].

4.3 Angiopeptin - ein Somatostatinanalogon

4.3.1 Biochemie und chemische Strukturformel von Angiopeptin

Dieses Medikament, welches international auch unter den Bezeichnungen BIM 23014-c, Lanreotide und Somatuline auftaucht, ist als weißer Puder im Handel, der bei Konzentrationen von 20-30 mg/ml und bei einem pH von 7 oder weniger wasserlöslich ist [375]. Es besitzt folgende Strukturformel:

Abbildung 2 aus [273]

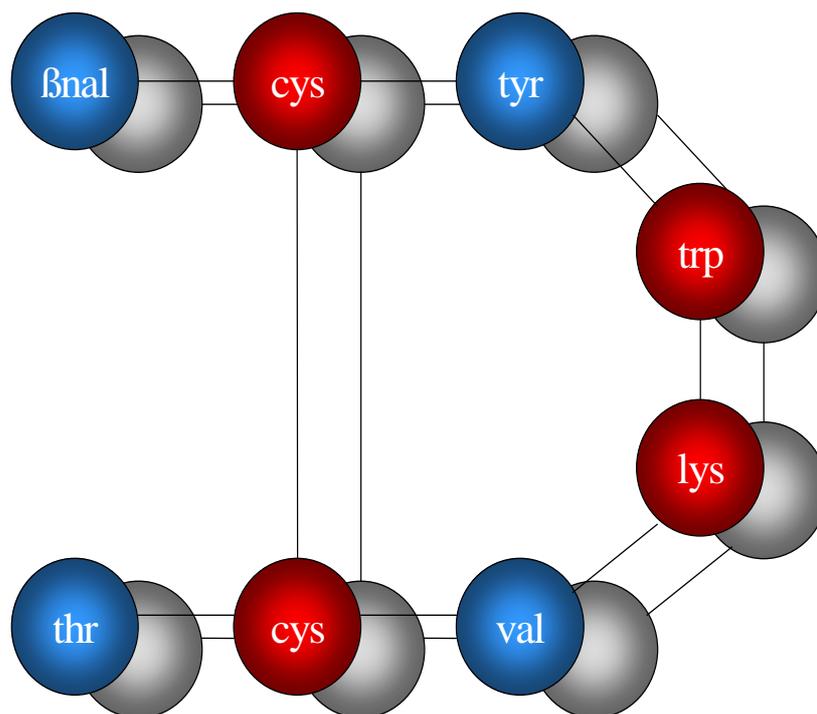
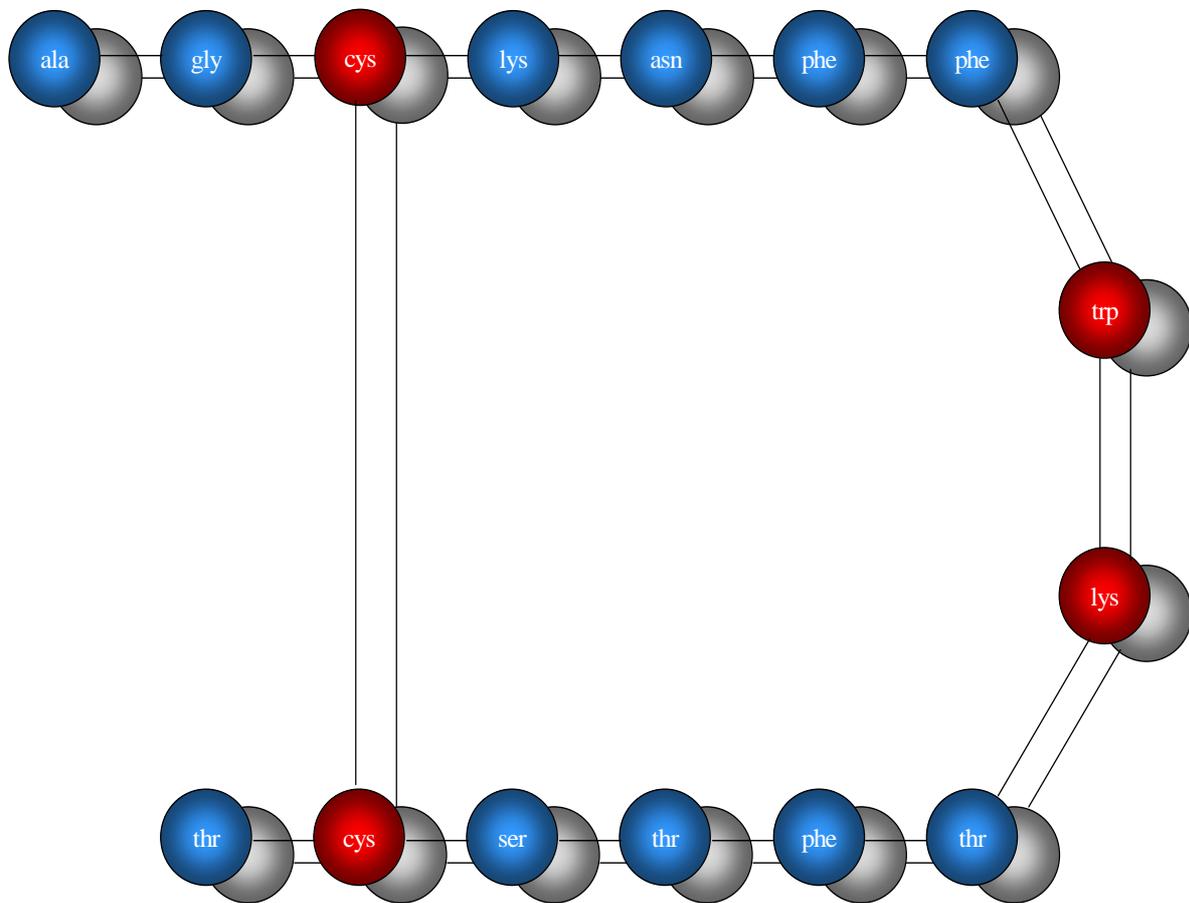


Abbildung 3 aus [273], strukturgleiche Elemente sind rot dargestellt



Wie aus Abbildung 2 erkennbar stellt Angiopeptin als zyklisches Oktapeptid mit einem Molekulargewicht von 1096,34 ein synthetisches Analogon des menschlichen Somatostatin (Abbildung 3) dar [273]. Werden alle fünf Somatostatin-Analoga (BIM 23014 {=Angiopeptin}, BIM 23034, BIM 23030, BIM 23027 und BIM 23012) hinsichtlich ihres hemmenden Effektes auf die Proliferation glatter Muskelzellen in den Gefäßen im Versuch an der Ratte untersucht, so inhibierten nur Angiopeptin und das sehr ähnliche BIM 23034 jene Hyperplasie in den Arterien bei einer Dosis von 50µg/kg/d [224, 100]. Die Unfähigkeit der anderen Analoga deutete darauf hin, dass die Fähigkeit, glatte Muskelzellen in ihrer Proliferation zu behindern, nicht im Zusammenhang mit der Inhibition der Wachstumshormonfreisetzung stand, da alle Somatostatinanaloga die Freisetzung von Wachstumshormon stark einschränkten [273].

4.3.2 Pharmakologische Eigenschaften von Angiopeptin

Die Pharmakokinetik und Verteilung von Angiopeptin wurde im Tierversuch an der Ratte untersucht [59]. Nach intravenöser oder subkutaner Verabreichung wurde Angiopeptin schnell absorbiert bei einer maximalen Plasmakonzentration von $25 \pm 4,1$ ng/ml 10-15 min nach Injektion. Nach subkutaner Gabe konnte schon nach fünf Minuten eine nachweisbare Menge gefunden werden. Man stellte fest, dass sich Angiopeptin hauptsächlich in Leber, im Verdauungstrakt und in der Niere anreichert. Die Plasmahalbwertszeit wurde nach subkutaner Injektion auf 2,6-2,9 Stunden nach intravenöser auf 1,98-2,47 Stunden angegeben, was wesentlich länger ist als die von Somatostatin und anderer Analoga [55, 25, 301, 235, 205]. Angiopeptin wurde hauptsächlich über die Leber mittels der Galle in den Verdauungstrakt ausgeschieden und der enterohepatische Kreislauf trug zur längeren Halbwertszeit bei. Der Prozentanteil, der nach subkutaner oder intravenöser Injektion nach 24 Stunden in Urin und Fäzes ausgeschieden wurde, lag zwischen 90-95%, wobei sich 85-90% in Fäzes und 5-10% im Urin befanden. Metaboliten des Angiopeptin wurden durch pankreatische Enzyme im Duodenum abgebaut, so dass keine weder in Urin, Galle oder Fäzes nachgewiesen werden konnten [273].

Pharmakokinetische Studien an gesunden Freiwilligen zeigten, dass die höchste Plasmakonzentration nach 15-30 Minuten erreicht war bei einer Eliminationshalbwertszeit von 1-1,5 Stunden im Plasma [192, 193]. Aufgrund dieser kurzen Halbwertszeit wurde daran gearbeitet, eine bessere Darreichungsform für Angiopeptin herzustellen. In jener Darreichungsform wurde der Wirkstoff Angiopeptin in verschiedene Copolymere eingeschlossen. In dieser Formel konnte die Plasma-Halbwertszeit bei gesunden Freiwilligen bis auf 4,5 Tage verlängert werden [194].

4.3.3 Wirkmechanismus von Angiopeptin

4.3.3.1 Effekte auf Immunzellen

Die Rezeptoren für Somatostatin sind nicht nur in der Hypophyse, im Pankreas, im Gastrointestinaltrakt und in manchen Tumoren zu finden, sondern auch in Lymphozyten [363, 351, 39, 281]. Darüber hinaus hemmt Somatostatin die Proliferation der Lymphozyten [298, 299, 365]. Angiopeptin verringert ebenso wie Somatostatin die Concavalin-A-induzierte Lymphozytenproliferation und die Aktivität von spezifischen natürlichen Killerzellen bei Mäusen. In Bezug auf die Immunmodulation weichen Angiopeptin und Somatostatin nicht voneinander ab [1].

4.3.3.2 Rezeptoren

Angiopeptin entfaltet seine Fähigkeiten erst nach Bindung an den Rezeptor auf der dafür vorgesehenen Zielzelle. Bis zu diesem Zeitpunkt sind fünf verschiedene Somatostatin-Rezeptoren (SSTR 1-5) bekannt. Sie gehören zur Familie der an G-Proteine gebundenen Rezeptoren mit typischer siebenfacher helikaler Membranstruktur [151, 202, 178]. Mehrere Somatostatinanaloga binden nicht an alle fünf Rezeptortypen und Angiopeptin nur an SSTR 2, 3 und SSTR 5 [51]. Auf einigen Tumorzellen bindet Angiopeptin sogar nur an SSTR 2 und SSTR 5 [316]. Bruns et al zeigten, dass alle synthetisch kürzeren Somatostatinanaloga, Angiopeptin mit eingeschlossen, die in klinischen Studien eingesetzt wurden, eine hohe Affinität zu SSTR 2 und SSTR 5 auf Tumorzellreihen von COS-1 und CHO-Zellen besaßen [51]. Obwohl es anfangs unklar erscheint, welcher Rezeptor als SSTR 4 und SSTR 5 bezeichnet werden sollte, wird jetzt SSTR 4 als Subtyp mit 388 Aminosäuren und SSTR 5 mit 364 Aminosäuren beim Menschen klassifiziert.

Die anderen Somatostatinrezeptoren besitzen als SSTR 1 391, als SSTR 2 369 und als SSTR 3 418 Aminosäuren [319].

Jene fünf Rezeptortypen sind sowohl beim Menschen als auch bei der Ratte häufig im Körper anzutreffen. Alle fünf Untergruppen können im Zentralnervensystem, in der Hypophyse und in der Milz nachgewiesen werden. Im Herzen werden große Mengen an mRNA für SSTR 4 exprimiert [273]. Leszczynski et al erbrachten den Beweis, dass in Koronararterien der Ratte glatte Muskelzellen sowohl Rezeptoren mit hoher als auch mit geringer Affinität für Somatostatin aufweisen [211]. Obwohl die Beziehung dieser beiden Rezeptoren und den anderen fünf Subtypen der Somatostatinrezeptoren unbekannt ist, können sich Angiopeptin und Somatostatin-14 von den Bindungsstellen am Rezeptor verdrängen, wobei letzteres eine wesentlich höhere Affinität als Angiopeptin besaß [273].

4.3.3.3 Signaltransduktion

Der Mechanismus der intrazellulären Signaltransduktion von Angiopeptin in Bezug auf die Hemmung der Zellproliferation ist mit hoher Wahrscheinlichkeit dem von Somatostatin sehr ähnlich [273]. In den Parietalzellen des Magens besitzt Somatostatin zahlreiche mögliche Ansatzpunkte [431]. Es kann zum Beispiel an ein hemmendes G-Protein gekoppelt sein, welches die Aktivität der Adenylatzyklase reguliert, hemmt die cAMP-induzierte Phosphorylierung [321], verringert die Mobilisierung von Calcium aus intrazellulären Speichern [320], hemmt die Aktivierung der Proteinkinase C, induziert Dephosphorylierungsvorgänge, erschwert die Öffnung von Kalziumkanälen und hemmt die Exozytose [273]. Die Aktivierung der einzelnen Somatostatinrezeptoren führt durch einen Kaliumstrom zur Hyperpolarisation der Zellmembran [384, 204]. In Pankreaszellen der Ratte wird die Stimulation der membranständigen Tyrosin-Phosphatase durch Angiopeptin beschrieben [62]. Angiopeptin bindet, wie vorher schon angesprochen, an den Rezeptor SSTR 2, der sich nochmals in zwei Typen aufspaltet, nämlich SSTR 2A und SSTR 2B und zur Familie der an G-Proteine gekoppelten Rezeptoren gehört. SSTR 2 ist wiederum gekoppelt an die Moleküle $G_{i\alpha 1}$, $G_{i\alpha 3}$ und $G_{o\alpha}$ [203]. $G_{i\alpha 1}$ verbindet den Rezeptor mit der Adenylatzyklase, $G_{i\alpha 3}$ mit den Kaliumkanälen und $G_{i\alpha 2}$ überbringt die Signale zu den Calciumkanälen. Auf diese Weise kann in die intrazelluläre Signaltransduktion eingegriffen werden [204]. Leszczynski et al nahmen an, dass nicht nur Somatostatin-14 sondern auch Angiopeptin die antiproliferativen Effekte durch Aktivierung einer Tyrosinphosphatase, die Tyrosinreste dephosphoryliert, erreicht und somit zur Hemmung der Zellproliferation beitrug [211].

Mooradian et al beschrieben, dass Angiopeptin sowohl die forskolin- als auch die isoproterenol-bedingte Anhäufung von cAMP in glatten Muskelzellen der Aorta einer Ratte abhängig von der Dosis verringert [268].

4.3.3.4 Beeinflussung der Zellmigration

Angiopeptin inhibiert nicht nur die Proliferation sondern auch die Migration von glatten Muskelzellen in Gefäßen in vitro [273]. Enthält ein Medium 4,8 bzw. 48 µg/ml (dies entspricht 4,4 und 44 µM) Angiopeptin konnte die Migration in der Aorta eines Rindes leicht, aber durchaus signifikant supprimiert werden [229]. Derselbe Effekt konnte bei Endothelzellen nachgewiesen werden [272]. Jene Potenz konnte sogar noch verstärkt werden, wenn Kollagen Typ I als chemotaktisches Agens vorhanden war [268]. Auf die hier genannten Autoren geht auch die Erkenntnis zurück, dass jene Hemmeffekte in Anwesenheit von Pertussin-Toxin nicht mehr wirken; dies zeigte, dass auch die Inhibierung der Zellmigration über G-Proteine organisiert wird und mit der Hemmung der Adenylatcyclase und Anhäufung von cAMP einhergeht.

4.3.3.5 Einfluss auf die Endothelfunktion

McNamara und Mitarbeiter erbrachten den Beweis, dass Angiopeptin die acetylcholin-induzierte Relaxation in der Aorta eines Kaninchens verbesserte und dabei das Prostaglandin I₂ nicht veränderte [236]. Folglich wurde angenommen, dass der inhibitorische Effekt des Angiopeptin teilweise durch eine Wiederherstellung der normalen Endothelfunktion bedingt war [215]. Obwohl Angiopeptin die Migration von Endothelzellen in vitro nur leicht zu hemmen vermochte [272], konnte es doch zur Normalisierung des Endothels nach Ballondilatation in vivo beitragen [215].

4.3.3.6 Adhäsion von Zellen

Die Adhäsion von Leukozyten und Endothelzellen ist ein Hauptfaktor am Beginn und beim Aufrechterhalten der Immunantwort [273]. Angiopeptin und Somatostatin erschweren die Adhäsion für unstimulierte und durch Interleukin-1ss (IL-1ss) aktivierte Endothelzellen an anderen Zellen [210]. Das Molekül ICAM-1 ist in diesen Mechanismus nicht eingebunden, da weder Angiopeptin noch Somatostatin die Expression dieses Adhäsionsmoleküls auf basalen oder durch IL-1ss aktivierten Endothelzellen vermindern kann. Angiopeptin kann aber die cAMP-Konzentration in diesen Endothelzellen vermindern, was zu einer geringeren Aktivität der cAMP-abhängigen Proteinkinase (PK) führen kann. Deshalb ist es interessant, dass der spezifische Aktivator der Proteinkinase Dibutyryl-cAMP (db-cAMP) die durch Angiopeptin vermittelte gehemmte Adhäsionsfähigkeit wieder aufhebt, und KT5720, ein spezifischer Antagonist zur Proteinkinase, die Möglichkeit zur Adhäsion von mononuklearen Zellen an Endothelzellen verringert.

Zusammengefasst bedeutet dies, dass die Hemmung der Adhäsion von mononuklearen Zellen an Endothelzellen durch Angiopeptin höchstwahrscheinlich durch eine Verkleinerung der Konzentration von cAMP zustande kommt, was in eine minimalere Aktivität der Proteinkinase mündet [210].

4.3.3.7 Auswirkung auf Protoonkogene

Die Induktion von Protoonkogenen steht mit am Anfang der Proliferation von glatten Muskelzellen [266, 32]. Angiopeptin konnte am Kaninchen nach Ballondilatation einen hemmenden Effekt auf Protoonkogene c-fos und c-jun nachweisen [31]. In einer Northern Blot Analyse wurden beide eben genannten Protoonkogene schon 30 Minuten nach Dilatation beim Kaninchen deutlich exprimiert. Tägliche subkutane Injektionen von Angiopeptin in der Dosierung von 20 µg/kg/d, beginnend 24 Stunden vor Dilatation, reduzierten 30 Minuten nach der Endothelverletzung die c-fos Expression um 41% und die von c-jun um 42%.

Auch die Intimahyperplasie konnte durch Angiopeptin 28 Tage nach Dilatation signifikant verringert werden. Fand jedoch die Injektion eine Stunde nach der obengenannten Untersuchung statt, konnte weder ein hemmender Effekt auf die Expression der Protoonkogene, noch auf die Intimahyperplasie nachgewiesen werden. Daraus folgerte man, dass jene Inhibition zur frühen G₁-Phase des Zellzyklus gehört [32].

4.3.4 Experimenteller Einsatz von Angiopeptin

4.3.4.1 Versuche am Kaninchen

Der hemmende Effekt von Angiopeptin auf die Entwicklung einer Transplantatvaskulopathie wurde erstmals am Kaninchen nach heterotroper Herztransplantation gezeigt [98]. Dabei wurden sowohl Spender als auch Empfänger der männlichen Outbred New Zealand White Kaninchen mit einer 0,5 prozentigen Cholesterindiät gefüttert, mit welcher eine Woche vor Transplantation begonnen wurde. Bei den Empfängern wurde diese Diät bis zum Ende der Studie weitergegeben. Das Spenderherz wurde am Hals des Empfängers eingepflanzt, wobei die Aorta ascendens und die Arteria pulmonalis End-zu-Seit mit der Arteria carotis und der Vena jugularis des Empfängers anastomosiert wurden. Die Vena cava superior und inferior wurde wie die Venae pulmonales ligiert. Die experimentelle Gruppe erhielt 60 µg/kg/d Angiopeptin in mehreren subkutanen Injektionen, die nach Reperfusion des Transplantates bis zum Studienende fortgesetzt wurden. In der Kontrollgruppe wurde ein Placebopräparat in gleicher Weise verabreicht. Beide Gruppen erhielten zur Prävention einer akuten Abstoßungsreaktion täglich 10mg/kg Cyclosporin A. Sechs Wochen später wurden natives Herz und das Transplantat dem Empfänger entnommen, fixiert und nach morphologischen Gesichtspunkten hinsichtlich einer Intimahyperplasie in den Koronararterien verglichen. Das Ausmaß der Hyperplasie wurde als prozentualer Anteil der Hyperplasie am gesamten Gefäß (eingeschlossen Intima und Media) definiert. Die Intimahyperplasie war in der experimentellen Gruppe signifikant geringer als in der Placebogruppe ($25,0 \pm 6,9$ % gegenüber $47,5 \pm 2,4$ %; bei $p < 0,01$). Die Hyperplasie im nativen Herzen konnte von $24,2 \pm 1,4$ % auf $15,7 \pm 1,5$ % gesenkt werden. Darüber hinaus wurden Fettablagerungen sowohl im normalen Herzen des Empfängers als auch im Transplantat signifikant verringert in der Gruppe, die Angiopeptin erhalten hatte ($p < 0,05$ und $p < 0,01$). Ähnliche Ergebnisse erzielten Calcagno und Mitarbeiter 1991 hinsichtlich der neointimalen Hyperplasie an Venengrafts [54].

1995 wurden die Auswirkungen von Angiopeptin auf das Immunsystem immunhistochemisch untersucht [221]. Dabei wurden 20 µg/kg/d kontinuierlich mit einer Minipumpe subkutan verabreicht, beginnend sieben Tage vor Transplantation bis sechs Wochen danach. Die Expression des MHC-II-Antigens konnte wie die Infiltration von T-Zellen und Makrophagen stark im Vergleich zur Placebogruppe unterdrückt werden. In Bezug auf die Häufigkeit von Abstoßungsreaktionen fand man keinen Unterschied zwischen den Kollektiven.

Weitere Versuche am Kaninchen werden aus dem logischen Zusammenhang im Folgenden dargestellt.

4.3.4.2 Versuche an der Ratte

Foegh und Mitarbeiter beschrieben auch die ersten Versuche an der Ratte [99]. Hier wurden der Effekt von verschiedenen Dosen von Angiopeptin bei Lewis-Ratten als Empfänger und F1-Nachkommen von Lewis- und Brown-Norway-Ratten als Spender untersucht. Wurden 0,5 mg/kg/d Cyclosporin mitverabreicht, verbesserten 5 µg/kg/d Angiopeptin die Überlebenszeit des Transplantates deutlich ($p < 0,05$) im Vergleich sowohl zur alleinigen Injektion von 0 und 1 µg/kg/d Angiopeptin als auch bei 20 und 250 µg/kg/d Angiopeptin. Das Nichtansprechen bei hohen Dosen von Angiopeptin könnte mit dem gleichen Effekt bei hohen Somatostatindosen zusammenhängen, wo in vitro 0,1-1 µg/ml im Kulturmedium die Proliferation von Lymphozyten sogar begünstigten [298].

Fellström et al transplantierten von DA Ratten in den Hals von PVG Ratten mittels einer Manschette [94]. Um akute Abstoßungsreaktionen zu verhindern, wurden 20 mg/kg/d Cyclosporin oral in den ersten zwei Wochen gegeben und vom 30. Tag an wurden die Empfänger mit 0,5 %iger Cholesterindiät gefüttert, um eine Transplantatvaskulopathie zu provozieren. Angiopeptin wurde mittels kontinuierlicher subkutaner Infusion in einer miniosmotischen Pumpe in der Dosis 100 µg/kg/d vom 30. Tag an bis zum Studienende nach sechs Wochen verabreicht. In der Kontrollgruppe konnte die Intimahyperplasie und ein proliferatives Remodelling der endokardialen Oberfläche deutlich herausgestellt werden. In der Angiopeptingruppe waren diese Zeichen weniger zu erkennen.

Am Klinikum Großhadern untersuchte man die Auswirkungen von Angiopeptin, wenn es zusammen mit dem Immunsuppressivum FK 506 verabreicht wird [257]. Die Behandlung mit 4mg/kg FK 506 verursachte milde Abstoßungsreaktionen, welche von spärlicher Lymphozyteninfiltration begleitet wurden. Eine Transplantatvaskulopathie konnte in dieser Gruppe deutlich häufiger ($2,2 \pm 0,9$) beobachtet werden als bei Ratten, die nur physiologische Kochsalzlösung erhielten ($p < 0,05$). Weder die einmalige Injektion von 100 µg/kg Angiopeptin am Tag ($1,1 \pm 1,0$) noch eine kontinuierliche Infusion ($0,7 \pm 1,0$) konnte die Häufigkeit einer Abstoßungsreaktion bei gleichzeitiger FK 506-Gabe verringern.

Das Auftreten einer GVD war in der Gruppe, in der einmal täglich Angiopeptin injiziert wurde zwar wenig geringer ($1,5 \pm 1,0$) als in der FK 506-Monotherapiegruppe, es konnte aber kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Die kontinuierliche Verabreichung von Angiopeptin bei gleichzeitiger FK 506-Gabe konnte aber sowohl im Vergleich zur FK 506-Monotherapie als auch bei FK 506- und einmaliger Angiopeptingabe die Inzidenz einer Transplantatvaskulopathie ($0,6 \pm 1,0$) signifikant ($p < 0,05$) verringern. Die Erkenntnis, dass nur die kontinuierliche Injektion von Angiopeptin einen protektiven Effekt gegenüber einer möglichen GVD besaß, hängt wohl mit der kurzen Halbwertszeit (nur 2,6-2,9 Stunden) nach subkutaner Verabreichung bei Ratten zusammen [59].

Um dem Mechanismus genauer zu untersuchen, mit welchem Angiopeptin eine mögliche Transplantatvaskulopathie verhindert, wurden Studien durchgeführt, in denen die Aorta von Ratten transplantiert wurden [273]. Es konnte nämlich gezeigt werden, dass die histologischen Veränderungen im transplantierten Aortensegment ohne Immunsuppressiva mit denen in menschlichen Transplantaten in einer akuten Abstoßungsreaktion übereinstimmten [263], was auch von anderen Autoren bestätigt wird [271, 114].

Mennander und Mitarbeiter zeigten in Helsinki, dass die kontinuierliche subkutane Verabreichung von 80 µg/kg/d Angiopeptin die Intimaverdickung im transplantierten Aortenbereich reduzieren kann (hierbei dienten DA-Ratten als Spender und WF als Empfänger) [260]. Jedoch konnte Angiopeptin nicht die Entzündung in der Adventitia und auch nicht die Migration von glatten Muskelzellen von der Media aus verhindern. Darüber hinaus besaß es keinen Effekt auf die Freisetzung des proinflammatorisch wirkenden Thromboxan B₂. Daraus schloss die Arbeitsgruppe, dass Angiopeptin die Infiltration von inflammatorischen Zellen nicht beeinflusste und dass der inhibierende Effekt durch direkte Interaktion mit den glatten Muskelzellen zu Stande kam.

Akyürek und Mitarbeiter verwendeten DA-Ratten als Spender und PVG als Empfänger und konnten keinen hemmenden Effekt von Angiopeptin auf die myointimale Hyperplasie acht Wochen nach Transplantation der Aorta feststellen [4]. Die Expression von MHC-II-Antigen, die Infiltration durch Makrophagen, Monozyten, CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten wurden durch Angiopeptin, hier mittels einer Minipumpe in der Dosis 100 µg/kg/d verabreicht, nicht beeinflusst. Auch in dieser Studie wurde eine syngenetische Transplantation nach einer Kälteischämiezeit von vier Stunden durchgeführt und hier ist Angiopeptin in der Lage, die Hyperplasie acht Wochen danach zu verringern. Aus diesen Erfahrungen schloss die Arbeitsgruppe, dass der inhibierende Effekt des Angiopeptin auf eine mögliche Transplantatvaskulopathie mit dem Schaden am Gefäßendothel, der durch Ischämie und Reperfusion entsteht, zusammenhängt.

Weiterhin wurde von derselben Arbeitsgruppe der Einfluss von Angiopeptin einmal nach allogener und zum zweiten nach syngener (genetisch identische Individuen) Transplantation von Aorten an Ratten untersucht [4]. Im allogenen Model wurden DA-Ratten als Spender und PVG-Ratten als Empfänger verwendet, im syngenen beide male PVG-Ratten. Angiopeptin wurde kontinuierlich subkutan in einer Dosierung von 100 µg/kg/d über 8 Wochen verabreicht. Darüber hinaus wurde bei jeweils der Hälfte des Kollektivs Angiopeptin der kardioplegischen Lösung zugefügt, so dass es unmittelbar nach der Explantation innerhalb der Ischämiezeit wirken konnte. Dies erbrachte aber keinen Unterschied zur subkutanen Behandlung und man betrachtet alle mit Angiopeptin behandelten Ratten als ein Kollektiv.

Erkenntnisse aus dem allogenen Model:

Angiopeptin konnte die Dickenzunahme der Intima nicht beeinflussen. Man erklärte sich dies durch einen fehlenden immunmodulatorischen Effekt des Medikaments auf Immunzellen, da keinerlei weitere Immunsuppression verabreicht wurden. Dies stand im Widerspruch zu allogenen Modellen anderer Autoren am Kaninchen [98] sowie an Ratten [94]. In beiden Versuchen wurde aber immunsuppressiv mit Cyclosporin A behandelt. Ebenso konnten Lou et al 1995 nach Herztransplantation am Kaninchen nachweisen, dass Angiopeptin die Expression von MHC-II-Antigen und die Infiltration von T-Lymphozyten und Makrophagen deutlich verminderte [221]. Im Unterschied zu oben genannten Untersuchungen wurde hier aber Angiopeptin erstmals sieben Tage vor Transplantation verabreicht und nicht erst am Tag des Eingriffes. Folglich erklärte sich der Unterschied in den Auswirkungen auf die Immunmodulation aus dem zeitlich unterschiedlichen Therapiebeginn [273]. Mennander und Mitarbeiter konnten 1993 sogar eine Verminderung der Anzahl an glatten Muskelzellen und der Dickenzunahme der Intima ohne jegliche Immunsuppression nach allogener Transplantation von Aortensegmenten an der Ratte nachweisen [260]. Hier wurde jedoch von WF- auf DA-Ratten transplantiert und der dort beschriebene Angiopeptineffekt hielt trotz kontinuierlicher Verabreichung nur 3 Monate an. Dies relativierte die Ergebnisse deutlich. Weiterhin konnten Akyürek und Mitarbeiter in ihrer Studie [4] eine Abnahme der Media beobachten im Vergleich zu den syngenen Transplantaten. Gleiches wurde auch von anderen Autoren festgestellt [224, 100, 263].

Als Grund hierfür wurde eine die Migration von glatten Muskelzellen aus der Media [224, 100] und / oder die Nekrose von Mediaanteilen durch zytotoxische Effekte vermittelt, von verschiedenen Zellmediatoren [263], angegeben.

Ergebnisse aus dem syngenem Modell:

Der Grund für die Entwicklung einer GVD muss bei Abwesenheit von immunmodulatorischen Effekten im schädigenden Potential von Ischämiezeit und Reperfusion begründet sein. Der tatsächliche Einfluss der Ischämiezeit wird von verschiedenen Autoren noch kontrovers diskutiert [228, 11], jedoch konnten Wanders und Akyürek in einem vorangegangenen gleichen Modell an der Ratte einen positiven Zusammenhang zwischen der Ischämiezeit und der Dickenzunahme der Intima herausstellen [409]. Folglich wurden die Transplantate einer Ischämiezeit von 4 Stunden ausgesetzt. Der Ansatzpunkt von Angiopeptin wurde hier einer Interaktion mit glatten Muskelzellen oder Endothelzellen zugeordnet und Angiopeptin konnte das Dickerwerden der Intima reduzieren [4]. Es konnte aber keine veränderte Expression der Wachstumsfaktoren wie PDGF oder TGF- α 1, TGF α 3 festgestellt werden, durch welche eine Inhibition der Proliferation und Migration der glatten Muskelzellen und Endothelzellen erklärt werden könnte.

1997 konzentrierten sich N. Motomura und Mitarbeiter weiter auf die Frage, wie Angiopeptin nach syngener Transplantation von deendothelialisierten Aortengrafts der Ratte seine Wirkung entfaltet [274]. Die Arbeitsgruppe konnte veranschaulichen, dass Angiopeptin, sowohl systemisch als auch lokal verabreicht, die myointimale Hyperplasie durch Suppression von IGF-I (Insulin-like-Growth-Factor-I), PDGF-BB (Platelet-derived-Growth-Factor-BB) und bFGF (basic Fibroblast-Growth-Factor) inhibierte. Die beiden Wachstumsfaktoren IGF-I und PDGF wurden vor allem mit der Migration von glatten Muskelzellen und die tyrosinkinase-abhängigen Faktoren IGF-I, PDGF und FGF auch mit der Proliferation in Verbindung gebracht.

Eine Arbeitsgruppe um Marie L. Foegh untersuchte 1992 die Bedeutung des Zeitpunktes, zu welchem Angiopeptin verabreicht werden sollte [100]. Das Medikament wurde hier entweder vom Zeitpunkt der Ballondilatation am Kaninchen oder nach einer Verzögerung von 8, 18 oder 27 Stunden danach bis zum 21. Tag gegeben. Eine 8 stündige Verzögerung ließ den hemmenden Effekt auf die myointimale Hyperplasie um 50% geringer werden und die Medikation nach 18 Stunden erbrachte sogar keinen Hemmeffekt mehr. Dies ließ den Schluss zu, dass Angiopeptin in die frühen Vorgänge nach dem Zustandekommen des Endothelschadens eingreift [273].

Die Arbeitsgruppe um Bauters C. schloss aus einer Untersuchung nach dem gleichen Modell, dass Angiopeptin die Expression der Gene c-fos und c-jun hemmend beeinflusst [31].

1998 veröffentlichten F. Alderton und Mitarbeiter Studien, die den Wirkmechanismus von Angiopeptin weiter aufklären sollten [7, 6]. Angiopeptin inhibierte die Zellproliferation demnach durch Interaktion mit den Rezeptoren SSTR2 und SSTR5. Die deutlich geringer ausgeprägte Bindung an SSTR3 führte zu keiner Minderung der Proliferation. Am SSTR2-Rezeptor der Ratte wirkte Angiopeptin als Agonist, während es am humanen SSTR2 nur als Teilagonist mit geringerer Affinität als Somatostatin selbst wirkte. Am SSTR5 der Ratte entfaltete Angiopeptin seine Wirkung auch nur als Teilagonist [7]. Im gleichen Jahr noch identifizierten F. Alderton und Mitarbeiter zwei Untergruppen des SSTR2-Rezeptors [6]. Schon frühere Studien zeigten, dass Somatostatin selbst die Zellproliferation sowohl hemmen als auch stimulieren kann [331, 429].

Die Identifizierung eines SSTR2a- und eines SSTR2b-Rezeptors konnte jene auf den ersten Blick verwirrende Beobachtung wahrscheinlich erklären. Auch die schwächer ausgeprägte

Wirkung von Angiopeptin konnte durch das gleichzeitige Vorkommen dieser Rezeptoruntergruppen erklärt werden, wenn man annimmt, dass sie unterschiedliche Wirkungen nach sich ziehen [6].

Bislang ist es noch nicht eindeutig geklärt, ob die hemmende Wirkung von Somatostatin auf die Intimahyperplasie durch die Beteiligung eines bestimmten oder möglicherweise aller Rezeptoren erfolgt. Zu diesem Zweck untersuchten S. Curtis und Mitarbeiter den Einfluss eines endothelialen Schadens auf die Expression der Somatostatinrezeptoren [70]. Die Studie konnte nachweisen, dass in unversehrten Iliakalarterien der Ratten zwei der fünf identifizierten Rezeptoren, nämlich SSTR2 als auch SSTR3, vorkommen. Wurden die Arterien am Endothel oder sogar bis an die Adventitia verletzt, wurde eine signifikante Vermehrung des SSTR2 beobachtet. Da Angiopeptin durch eine höhere Affinität zum SSTR2 als zum SSTR3 ausgezeichnet ist [316], liegt der Schluss nahe, dass Somatostatin und Angiopeptin über diesen SSTR2 ihre Wirkung entfalten [60]. Desweiteren konnte man keine Vermehrung der anderen Rezeptoren SSTR1, SSTR4 oder SSTR5 beobachten. Eine höhere Dichte an mRNA für SSTR2 wurde bis zu zwei Monaten nachgewiesen mit den höchsten Werten bei einem Monat nach Ballondilatation oder Dissektion. Auch sind die Maximalwerte nach Dissektion nicht größer als nach alleinigem Schaden am Endothel, was darauf hindeutete, dass in der Blutbahn zirkulierendes Somatostatin für die Effekte auf die Hyperplasie verantwortlich war und nicht etwa Somatostatin, welches von Nervenzellen oder glatten Muskelzellen stammt [70].

4.3.4.3 Versuche an der Maus

1999 veröffentlichten J. R. Lee et al im Journal of Korean Medical Science eine Studie, in der die Auswirkungen von Angiopeptin und Aspirin auf die Transplantatvaskulopathie nach heterotoper Herztransplantation an Mäusen untersucht wurden [148]. Es konnte veranschaulicht werden, dass Angiopeptin die Proliferation der glatten Muskelzellen vor allem in Gefäßen, die größer als 100 µm waren, signifikant zu vermindern vermochte. Angiopeptin wurde mittels einer Pumpe kontinuierlich in der Dosierung 80 µg/kg/d verabreicht. Bei Aspirin konnte keine Beeinflussung der Proliferation beobachtet werden.

4.3.5 Klinische Studien

Auf diese experimentellen Studien aufbauend wurden in Deutschland Untersuchungen zur klinischen Testung von Angioeptin durchgeführt [406, 407, 339].

In der einzigen ebenso prospektiven Untersuchung der Arbeitsgruppe um Wahlers aus Hannover wurden 54 Patienten eingeschlossen, die im Zeitraum von März 1991 bis Oktober 1992 transplantiert wurden. Das Durchschnittsalter lag in jenem Kollektiv bei 47 ± 10 Jahren darunter 46 männliche und 8 weibliche Studienteilnehmer. 47 Patienten litten an dilatativer, 7 an ischämischer Kardiomyopathie. Alle Patienten wurden mit einer Dreifachkombination aus Cyclosporin (3-10 mg/kg), Azathioprin (1,0-2,5 mg/kg) und Prednisolon (0,5-0,1 mg/kg) immunsupprimiert. Wie üblich wurden nach Öffnen der Aortenklammer weitere 500 mg Prednisolon intraoperativ und dreimal 125 mg nach jeweils 12 Stunden verabreicht. Zusätzlich erhielten die Patienten in den ersten 4 Tagen postoperativ ATG (1,5 mg/kg).

1500 µg Angioeptin wurden alle 8 Stunden subkutan 21 Tage lang postoperativ verabreicht. Bei jeder Abstoßungsreaktion nach dem 21. Tag wurden ebenso am Tag der Biopsie 3mal täglich 1500 µg Angioeptin verabreicht. Jährliche Herzkatheteruntersuchungen dienten als Diagnostikum.

Als Kontrollgruppe wurde ein Kollektiv aus 257 Patienten herangezogen, die im Zeitraum von Oktober 1985 bis Mai 1990 transplantiert wurden. Lediglich Patienten, die die ersten 2 Jahre nach Transplantation überlebt hatten, wurden in die Studie aufgenommen.

In den beiden Studienjahren konnten keine negativen Nebeneffekte des Medikaments Angioeptin festgestellt werden; die Patienten tolerierten die subkutanen Injektionen sehr gut und die Laborwerte für Leberenzyme und die Nierenfunktion zeigten keine Verschlechterung. Nach einem Jahr waren noch 85 % und nach 2 Jahren 80 % der Patienten am Leben, die Angioeptin erhalten hatten, im Vergleich zu 80 % und 77 % in der Kontrollgruppe (zieht man alle 257 Patienten des Kontrollkollektivs heran). Zwei Patienten starben frühpostoperativ durch Transplantatversagen am zweiten postoperativen Tag und am 29. Tag durch Multiorganversagen. Sechs Patienten verstarben im ersten und zwei im zweiten Jahr durch Infektionen (n=3), Leberversagen (n=1), akute Abstoßung (n=1), plötzlichem Herztod (n=1), Sepsis (n=1) und Nierenversagen mit folgendem Multiorganversagen (n=1).

In der Kontrollgruppe verstarben drei Patienten im Langzeitverlauf an Multiorganversagen, Bronchialkarzinom und Epilepsie.

Nach einem Jahr wurde bei 9 Patienten (17 %) eine Transplantatvaskulopathie diagnostiziert. Nach 2 Jahren konnten bis zum Zeitpunkt der Veröffentlichung der Studie nur 18 Patienten angiographiert werden. Weitere 3 Patienten zeigten angiographische Veränderungen. In der Kontrollgruppe zeigte sich eine Inzidenz der Vaskulopathie in 13 % nach 1 Jahr und bei 20 % der Patienten nach 2 Jahren. Die Häufigkeit des Auftretens einer Transplantatvaskulopathie war in beiden Gruppen somit sowohl nach einem als auch nach zwei Jahren ohne signifikanten Unterschied.

In der Studiengruppe konnten geringere Kreatininwerte erreicht werden und die Zahl der Abstoßungen war deutlich kleiner ($p < 0,05$) [407].

Eine weitere Untersuchung wurde 1995 in München als Placebo-kontrollierte Pilotstudie durchgeführt [250]. Den 29 Patienten wurde entweder das Placebopräparat oder 3000 µg Angioeptin in aufgeteilten subkutanen Injektionen 14 Tage lang verabreicht, komplettiert durch die gleiche Tagesdosis an drei aufeinanderfolgenden Tagen beim Auftreten einer Abstoßungsreaktion. Im Vergleich zum Placebokollektiv wies die Studiengruppe im intrakoronaren Ultraschall eine geringere Intimaverdickung und einen kleineren Intimaindex (% Intimabereich/[Intima+Lumen des Gefäßes]) auf.

Die Auswirkungen des Medikaments Angiopeptin wurden aber nicht nur nach Herztransplantation sondern auch nach Perkutaner Transluminaler Koronarangioplastie (PTCA) zur Bekämpfung einer koronaren Herzerkrankung untersucht. In drei solcher Studien wurden die Patienten nach 6 und 12 Monaten im Hinblick auf ernsthafte klinische Vorkommnisse beobachtet, die durch Ischämie oder durch eine Restenose auftreten könnten: Tod, Myokardinfarkt, Bypass-Operation oder eine wiederholte PTCA. Ebenfalls nach sechs Monaten wurde eine Herzkatheteruntersuchung durchgeführt, um eventuelle Restenosen, Veränderungen im Lumendurchmesser oder ähnliche Pathologien festzustellen. In zwei dieser Studien wurde Angiopeptin kontinuierlich subkutan vom Tag der PTCA bis zum 5. Tag danach verabreicht und hier wurden die Patienten sowohl nach sechs als auch nach zwölf Monaten in einer besseren klinischen Verfassung vorgefunden [86, 89]. In der dritten Studie, in der Angiopeptin zweimal am Tag injiziert wurde, konnte dieser Effekt statistisch nicht signifikant nachgewiesen werden, was wahrscheinlich auf die zu kurze Halbwertszeit des Medikaments zurückzuführen war [273, 100].

Momentan ist es noch schwer, den genauen Wirkmechanismus von Angiopeptin zu beschreiben. Nach derzeitigen Erkenntnissen sind drei Modelle denkbar:

1. Angiopeptin wirkt ähnlich wie Somatostatin als Hemmstoff für Wachstumshormone und dem Insulin-like-growth-factor.
2. Angiopeptin unterbindet die Proliferation durch direkte Interaktion mit den glatten Muskelzellen.
3. Angiopeptin beeinflusst Rezeptoren auf den glatten Muskelzellen [273].

4.3.6 Vergleich der Ergebnisse aus Tiermodell und klinischem Einsatz

Die Arbeitsgruppe um Susan B. Curtis veröffentlichte im Juni 2000 Ergebnisse [70], welche die Erkenntnisse aus dem Einsatz von Angiopeptin am Menschen im Vergleich zu Versuchen an Ratten erklären könnten [86, 89].

Es konnte verdeutlicht werden, dass in gesunden und arteriosklerotisch veränderten Gefäßen (in diesem Fall wurden Proben aus Aorta, der A. mammaria int. und der V. saphena verwendet) vor allem mRNA von SSTR1 aber auch geringere Konzentrationen von SSTR2 und SSTR 4 exprimiert wurde. Die Tatsache, dass die SSTR2-mRNA erst zu einem späteren Zeitpunkt nachgewiesen werden konnte, führte zu dem Schluss, dass sie im Gegensatz zur SSTR1- bzw. SSTR4-mRNA nicht aus dem Endothel stammt. Messenger-RNA von SSTR3 oder SSTR5 konnte nicht nachgewiesen werden. Folglich war nur ein Rezeptor, der von Angiopeptin mit hoher Affinität gebunden wird, nämlich SSTR2, vorhanden.

Angiopeptin vermag bei ca. 1000fach höherer Dosierung (1 μ M), die Rezeptoren 1 und 4 zu aktivieren, was sich aber durch bekannte Nebenwirkungen, wie Diarrhoe oder abdominelle Schmerzen, nie in der klinischen Praxis durchsetzen wird [70].

Drei Studien untersuchten den Einfluss von Angiopeptin nach PTCA [86, 89, 316]. In den beiden Studien aus Europa wurde Angiopeptin über eine Pumpe kontinuierlich subkutan verabreicht, was Nebenwirkungen wie Schmerz an der Injektionsstelle oder im Abdomen und Diarrhoe vermindert [86, 89]; in der Studie aus den USA [316] wurden zwei subkutane Dosen pro Tag verabreicht. Hier konnte weder eine statistisch signifikante Verminderung der Anzahl von klinischen Komplikationen, noch von der Rate an angiographisch sichtbaren Restenosen erreicht werden, woraus man schloss, dass hierdurch bei einer Halbwertszeit von ca. 90 Minuten keine adäquaten Plasmaspiegel erreicht wurden.

In den Studien aus Europa wurde einmal eine signifikante Verminderung der Restenoserate (bei einer konstanten Dosis von 750 µg/d über fünf Tage, beginnend 24 Stunden vor PTCA) [89] und bei höherer Dosierung (10 µg/kg/d, beginnend 6-24 Stunden vor PTCA) eine signifikante Verminderung der klinischen Komplikationen nach einem Jahr [86] nachgewiesen. Angiopeptin sollte also mindestens 24 Stunden vor dem Eingriff verabreicht werden.

Diese Ergebnisse sind, wie oben angesprochen, auf das unterschiedliche Vorhandensein der Somatostatinrezeptoren bei Ratten und Mensch zurückzuführen.

5. Zusammenfassung

Wie schon beschrieben besitzt die Transplantatvaskulopathie einen signifikanten Einfluss auf das Überleben der Patienten nach orthotoper Herztransplantation und stellt somit die gefährlichste Langzeitkomplikation dar [142, 75].

Es existieren deutliche Hinweise, dass jegliche Verletzung der Endothelschicht und die folgende Expression von Adhensionsmolekülen, die Migration von Leukozyten und die Freisetzung von Wachstumsfaktoren zur Progression dieser Erkrankung beiträgt [198, 20, 68].

Angiopeptin besitzt durch seine längere Halbwertszeit in vivo eine höhere Potenz in der Inhibierung von Wachstumshormonen. Der antiproliferative Effekt wurde bereits an mehreren Tumorzellen in vitro nachgewiesen und bestätigt [386, 387]. Darüber hinaus wurde an Koronararterien von Schweinen (Ramus interventricularis anterior der linken Koronararterie) und an Segmenten der Arteria carotis von Ratten ein ähnlicher Einfluss auf glatte Muskelzellen nachgewiesen. Diese in vitro Experimente zeigten, durch Zugabe von H3-Thymidin, eine dosisabhängige Inhibierung der Proliferation glatter Muskelzellen [224, 403].

In vivo konnte dargelegt werden, dass Angiopeptin die myointimale Proliferation nach gesetztem Endothelschaden an Arterien durch Lufttrocknung oder nach Ballonkatheterisierung hemmt [100]. Als weiterer Einfluss von Angiopeptin auf die myointimale Hyperplasie wurde die Inhibierung der Adhäsion von mononuklearen Zellen an das Endothel beschrieben [210].

Die protektive Wirkung von Angiopeptin auf eine sich entwickelnde Transplantatvaskulopathie wurde erstmals im Zuge eines heterotopen Transplantationsmodell am Kaninchen dargelegt. Unter der Verwendung einer 0,5 %igen Cholesterindiät und eines Immunsuppressionsschema mit Cyclosporin A wurde entweder Angiopeptin (60 µg/kg/d) oder Placebo über einen Zeitraum von 6 Wochen verabreicht. In der Behandlungsgruppe mit Angiopeptin konnte die intimale Hyperplasie signifikant reduziert werden [98]. Immunhistochemische Untersuchungen am gleichen Tiermodell zeigten bei kontinuierlicher Gabe von 20 µg/kg/d eine deutliche Suppression von MHC-II Antigenen und eine geringere Infiltration von T-Zellen und Makrophagen [221]. Darüber hinaus wurden mehrere verschiedene Dosierungen von Angiopeptin an transplantierten Herzen bei Ratten untersucht: Die mittlere Dosierung von 5 µg/kg/d (in Kombination mit einer festgelegten Dosis von Cyclosporin) führte zu einer signifikanten Verlängerung des Graft-Survivals [99]. In einem weiteren experimentellen Ansatz an Ratten führte die kontinuierliche Infusion mittels einer miniosmotischen Pumpe von 100 µg/kg/d zu einer verminderten Proliferation der Koronarintima und zu einem verbesserten Remodelling der endokardialen Oberflächen [94]. Ähnliche Ergebnisse konnte auch die Arbeitsgruppe am Klinikum Großhadern hinsichtlich einer signifikanten Reduktion der Transplantatvaskulopathie bei kontinuierlicher Gabe von Angiopeptin an transplantierten Rattenherzen [257] aufzeigen.

Die einzige andere klinische Studie mit dem Ziel, den Einfluss von Angiopeptin auf die Transplantatvaskulopathie zu untersuchen, war prospektiv, jedoch nicht randomisiert designed [407]. 54 Patienten wurden hinsichtlich der Einschlusskriterien gematched und mit Angiopeptin (1,5 mg subkutan alle 8 Stunden über einen Zeitraum von 21 Tagen) behandelt. Darüber hinaus wurde jede Abstoßung jenseits des Behandlungszeitraumes von 21 Tagen mit dem gleichen Schema einen Tag lang behandelt. Die durch Angiographie gewonnenen Befunde wurden mit einer historischen, gematchten Kontrollgruppe aus 257 herztransplantierten Patienten der vorangegangenen fünf Jahre verglichen. Nach einem Follow-Up von einem Jahr konnte mittels Koronarangiographie kein signifikanter Unterschied in der Ausprägung der Transplantatvaskulopathie zwischen beiden Gruppen beobachtet werden. Bei genauer Betrachtung der Auswahl der Kontrollgruppe wurden zwei Gesichtspunkte deutlich, welche eventuell den fehlenden statistischen Unterschied bedingt haben könnten:

1. Es handelt sich um eine historische Kontrollgruppe mit Patienten, die bis zu 5 Jahren vor Beginn der Studie transplantiert worden waren.
2. Um in die Kontrollgruppe aufgenommen werden zu können, mussten die Patienten die ersten 2 Jahre nach Transplantation überlebt haben. Mit diesem Konzept könnten Patienten selektiert worden sein mit einer geringen Komplikationsrate und somit mit einer ebenso geringen Inzidenz der Transplantatvaskulopathie im 1-Jahres-Follow-Up.

Darüber hinaus wurde im Unterschied zu unserer Studie Angiopeptin weder zur kardioplegischen Lösung hinzugefügt, noch intraoperativ oder kontinuierlich über einen festgelegten Zeitraum nach Transplantation verabreicht. Gerade zu diesem Zeitpunkt wäre jedoch die Gabe sinnvoll, da die Schädigung der endothelialen Zellschicht ein Maximum erreicht während der Explantation, der Präservierung und Implantation aufgrund von Ischämie, anfallenden Noxen für Zellen in der kardioplegischen Lösung und dem entstehenden Reperfusionsschaden [144, 19, 72, 11]. Unterstrichen wird die Bedeutung des Verabreichungszeitpunktes und der Dauer durch einen experimentellen Ansatz an Kaninchen: nach Ballonkatheterisierung, folglich verursachtem Endothelschaden und um 8 Stunden verzögerte Gabe, reduzierte sich die Effizienz von Angiopeptin um 50% [312, 313, 100].

Nach der Transplantation können sowohl zelluläre als auch humorale Immunreaktionen des Empfängers zu Inflammation und folglich zum Endothelschaden führen [390, 433]. Demzufolge könnten die perioperative Phase und die ersten Wochen nach Transplantation, in denen die höchste Inzidenz von akuten Abstoßungen vorliegt, als kritische Zeiträume zur unmittelbaren Triggerung der Zellproliferation beitragen. Auf diesen Erkenntnissen begründet, wurde in unserer Studie ein Verabreichungsschema entwickelt, welches die ersten Wochen nach Transplantation abdeckt.

Die Annahme, dass die Inzidenz von akuten Abstoßungsreaktionen mit derjenigen der Transplantatvaskulopathie korreliert, wie in einigen klinischen Studien bestätigt [198, 284, 239, 66], wird durch die Tatsache unterstützt, dass in histochemisch untersuchten Läsionen, in denen eine Transplantatvaskulopathie vorliegt, signifikant mehr T-Lymphozyten gefunden wurden. In einigen Fällen konnte der Wirkmechanismus zur Verminderung der Inzidenz einer Transplantatvaskulopathie von z.B. HMG-CoA-Reduktasehemmern nicht nur auf den Einfluss auf den LDL-Cholesterinspiegel sondern auch auf eine immunsuppressive Wirkung zurückgeführt werden [100, 174].

Gleiche Ergebnisse wurden von Wahlers et al beschrieben [407], welcher eine signifikant erniedrigte Inzidenz von Abstoßungen bei mit Angiopeptin behandelten Patienten beobachtete und somit auch auf eine mögliche immunsuppressive Wirkung von Angiopeptin hinwies. In dieser schon beschriebenen Studie wurden die Patienten mit Angiopeptinmedikation jedoch mit einer historischen Kontrollgruppe verglichen, deren Immunsuppression möglicherweise in Potenz und verabreichtem Schema unterschiedlich war. Die Dosierungen von zum Beispiel Azathioprin bei Angiopeptinpatienten waren in der frühen postoperativen Phase signifikant höher. Derartige Erkenntnisse konnten von unserer Arbeitsgruppe nicht abgeleitet werden, da sowohl experimentell [245] als auch klinisch in Behandlungsgruppe und Placebogruppe die gleiche Inzidenz an Abstoßungen vorlag.

Weiterhin können nicht-immunologische Faktoren zur Entwicklung der Erkrankung beitragen und so die immunologische Induzierung weiter verstärken. Ein möglicher endothelialer Schaden kann durch Diabetes mellitus [312, 313, 322], durch arteriellen Hypertonus oder durch oxidative Metaboliten hervorgerufen durch oxidiertes LDL-Cholesterin, verstärkt werden. Es liegen Ergebnisse vor, dass die Behandlung von erhöhten LDL-Werten und arteriellem Hypertonus nach Transplantation protektiv gegen eine Transplantatvaskulopathie wirken [100, 174, 347]. In unserer Studie konnte ein Einfluss dieser Risikofaktoren ausgeschlossen werden, da der Prozentanteil der Patienten, welche Insulin, eine antihypertensive Medikation oder HMG-CoA-Reduktasehemmer erhielten, sich in beiden Behandlungsgruppen im Beobachtungszeitraum nicht unterschied.

Darüber hinaus wurden eine vor Transplantation bestehende Hypercholesterinämie des Empfängers, ein Empfängeralter > 40 Jahre und ein positiver CMV-Serostatus des Empfängers zu Randomisierungskriterien erklärt. Dies geschah unter der Annahme, dass, wie es aus retrospektiven Analysen klinischer Untersuchungen ersichtlich war, konventionelle kardiovaskuläre Risikofaktoren wie Hypercholesterinämie [26, 33, 330, 9, 364] und fortgeschrittenes Alter (des Empfängers) [238, 237] die Entwicklung einer Transplantatvaskulopathie begünstigen.

Die Cytomegalie-Virus-Infektion stellt eine bekannte Komplikation bei transplantierten Patienten dar. Ergebnisse aus einigen klinischen Studien implementierten auch eine Korrelation zwischen dieser Infektion und der Entwicklung einer Transplantatvaskulopathie [189, 91, 187, 373]. Die gleiche Verteilung dieser drei Parameter zwischen den Gruppen (garantiert durch die Randomisierung) schloss eine Beeinflussung der Ergebnisse aus.

Die Evaluation der Studienergebnisse hinsichtlich der Entwicklung einer Transplantatvaskulopathie (durch Koronarangiographie) zeigte eine verminderte Inzidenz von Läsionen nach 2 Jahren in der Angiopeptingruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (9 % vs. 38 %). Dieser Unterschied war aber nicht statistisch signifikant ($p = 0,183$) und nahm im Beobachtungszeitraum ab (nach 4 Jahren 27 % vs. 44 %, $p = 0,488$). Dennoch, während die Inzidenz der Transplantatvaskulopathie in der Kontrollgruppe ein vergleichbares Niveau wie aus Veröffentlichungen bekannt (10-15 % 1 Jahr nach Transplantation) [291] erreichte, zeigte sich in der Angiopeptingruppe eine relativ geringe Zahl von Patienten mit Zeichen einer Transplantatvaskulopathie. Darüber hinaus unterschied sich das Ausmaß der diagnostizierten Läsionen zwischen den Gruppen: keiner der Patienten in der Angiopeptingruppe, aber zwei Patienten aus der Kontrollgruppe litten unter einem kompletten Verschluss einer Koronararterie. Ein Patient verstarb sogar an einem akuten Myokardinfarkt. Die Tatsache, dass bei zwei Patienten aus der Kontrollgruppe in der Baseline-Angiographie nach Transplantation leichte Stenosen (< 25 %) festgestellt wurden, hatte keinen Einfluss auf die Ergebnisse, da hierfür lediglich neu aufgetretene Veränderungen an den Koronararterien herangezogen wurden.

Darüber hinaus wurde auch in der Literatur beschrieben, dass eine durch den Spender vorbestehende koronare Herzerkrankung ein Fortschreiten der Transplantatvaskulopathie nicht begünstigt [45].

In der konventionellen Koronarangiographie war es jedoch schwierig, die Transplantatvaskulopathie zu diagnostizieren, vor allem, wenn es sich um frühe und homogene Veränderungen handelte. Dies stellt eine Hauptdomäne des intravaskulären Ultraschalls dar: mit der Diagnose von sowohl leichten als auch schwerwiegenden Veränderungen an der Intima im entsprechenden Gefäß mittels IVUS kann eine Aussage über die Prognose und Entwicklung von in der konventionellen Angiographie sichtbaren Läsionen getroffen werden [391, 240, 323]. Darüber hinaus ist es mit IVUS möglich, sowohl den Durchmesser des Gefäßes als auch die Dicke von Intima und Media zu beurteilen. Nachdem diese Untersuchung an unserem Zentrum nach Beginn der Studie zur Verfügung stand, fand in Absprache mit der zuständigen Ethikkommission eine Überarbeitung des Studienprotokolls statt: alle Patienten, die der Untersuchung zustimmten, wurden mit IVUS zu einem Zeitpunkt im regulären Beobachtungszeitraum untersucht (durchschnittlich nach $33,5 \pm 5,2$ Monaten). Die Ergebnisse unterstrichen den Trend, der aus der konventionellen Angiographie zu erkennen war: die durchschnittliche Intimadicke war in der Kontrollgruppe um 50 % ausgeprägter ($0,27 \pm 0,2\text{mm}$) als in der Angiopeptingruppe ($0,18 \pm 0,2\text{mm}$, $p = 0,23$). Jedoch darf nicht nur die Quantität einer intimalen Dickenzunahme beurteilt werden, da nach Transplantation auch komplexe kompensatorische Effekte eine Rolle spielen (Remodeling) [111]. Die Evaluation des Intimaindex ermöglichte genauere Aussagen über Stenosen in Koronararterien, die das Lumen einengten und so den koronaren Blutfluss beeinträchtigten. Die Ergebnisse aus der Beurteilung des Intimaindex (Angiopeptingruppe 14 ± 15 %, Kontrollgruppe 22 ± 11 %) wies noch einmal deutlicher darauf hin, dass die Gabe von Angiopeptin zu einem frühen Zeitpunkt nach Transplantation den allmählichen Verschluss eines Gefäßes entgegenwirken könnte. Aufgrund der zu kleinen Anzahl von Patienten im Kollektiv erreichte dieser Unterschied keine statistische Signifikanz ($p = 0,18$).

Drei doppelblinde kontrollierte klinische Studien stehen in den letzten Jahren mit Angiopeptin nach Percutaner Transluminaler Koronarangiographie (PTCA) zur Diskussion.

Im Zuge einer multizentrischen Pilotstudie wurden 112 Patienten mit Angiopeptin ($750 \mu\text{g/d}$, verabreicht subkutan, kontinuierlich) oder Placebo behandelt. Die Inzidenz von klinisch relevanten Ereignissen konnte nach 12 Monaten vermindert werden und nach 6 Monaten zeigte sich eine signifikant geringere Rate an Restenosen (kontrolliert mit Koronarangiographie) bei den mit Angiopeptin behandelten Patienten [89].

Die Folgestudie schloss insgesamt 553 Patienten ein. Angiopeptin ($3\text{-}6 \text{ mg/d}$) oder Placebo wurden kontinuierlich von 6-24 Stunden vor PTCA sowie 4 Tage nach PTCA verabreicht. Konform der vorangegangenen Pilotstudie verminderte Angiopeptin die Inzidenz von klinischen Ereignissen während eines Beobachtungszeitraumes von 12 Monaten signifikant, während aber nach 6 Monaten angiographisch kein Unterschied zwischen den Gruppen zu erkennen war [86].

Die dritte Studie schloss multizentrisch 1246 Patienten ein. Diese erhielten, ähnlich wie unserem Studienprotokoll, Angiopeptin oder Placebo in Form von subkutanen Injektionen zweimal am Tag [169]. Es konnte weder bei den klinischen Ereignissen, noch bei den Angiographien im Beobachtungszeitraum signifikante Unterschiede herausgearbeitet werden, möglicherweise auch wegen der im Vergleich zur kontinuierlichen Gabe suboptimalen Dosierung.

Pharmakokinetische Studien mit subkutaner Applizierung von Angiopeptin am Menschen zeigten: die Halbwertszeit im Plasma lag, gekennzeichnet durch eine lineare Regression abhängig von der durchschnittlichen Gesamtkonzentration, zwischen 1 und 6 Stunden und konnte anschließend mit 1,19 Stunden angegeben werden. Diese Daten wiesen darauf hin, dass Angiopeptin nach subkutaner Gabe rasch eliminiert wird [193].

Ähnliche Ergebnisse konnten in unserem experimentellen Ansatz im Bezug auf die Transplantation an Ratten erzielt werden. Im Zuge dieser Untersuchung wurde Lewis-Ratten heterotop Herzen von Brown-Norway-Ratten transplantiert. Die Empfänger wurden 50 Tage lang mit Tacrolimus (FK506) immunsupprimiert. Die Transplantatvaskulopathie konnte in diesen Transplantaten deutlicher nachgewiesen werden (durchschnittlicher Grad $2,2 \pm 0,9$, auf der festgelegten Skala von 0-4) als in der Gruppe mit isologen Transplantaten (durchschnittlicher Grad $1,5 \pm 1,0$). Die kontinuierliche Infusion von Angiopeptin verminderte die Transplantatvaskulopathie signifikant (durchschnittlicher Grad $0,6 \pm 1,0$) sogar unter den Wert in der Gruppe mit isologen Transplantaten [257, 245]. Eine Retardform von Angiopeptin war zum Zeitpunkt des Studienbeginns nicht verfügbar und Versuche mit einer Perfusorpumpe zur kontinuierlichen Infusion zeigten eine hohe Belastung der Patienten und waren assoziiert mit der Gefahr von Infektionen unter immunsuppressiver Therapie. Folglich musste die Medikation auf Injektionen zweimal am Tag reduziert werden.

Hinsichtlich der oben dargelegten Halbwertszeit von Angiopeptin beim Menschen kann die erreichte Angiopeptin-Prophylaxe in den ersten wichtigen zwei Wochen nach Herztransplantation nicht als optimal bezeichnet werden.

Darüber hinaus, da Angiopeptin bei jeder aufgetretener Abstoßung verabreicht wurde, konnten nur festgestellte Abstoßungen einbezogen werden. Dies wurde mit einem aufwendigen Biopsieschema versucht zu gewährleisten: Biopsien in Woche 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 nach Transplantation und folgend nach 4, 5, 6, 9, 12 Monaten, anschließend einmal jährlich oder bei klinischem Verdacht auf eine vorliegende Abstoßungsreaktion. Dennoch ist es bekannt, dass Patienten vor allem im ersten Jahr häufig unter schwer zu diagnostizierenden stummen Abstoßungen leiden. Ebenso wurden andere nicht-immunologische Risikofaktoren für einen entstehenden Endothelschaden (zum Beispiel Infektionen) nicht durch eine entsprechende Angiopeptinbehandlung abgedeckt. Da die genannten Faktoren in den ersten 12 Monaten nach Transplantation zu einer Kumulierung führen könnten, könnte eine dauerhafte Behandlung mit einer Retardform von Angiopeptin (und einer Injektion zum Beispiel einmal wöchentlich), die in unserer Untersuchung zu erkennenden Trends zu einer signifikanten Protektion vor einer Entwicklung einer Transplantatvaskulopathie nach Herztransplantation führen. Ebenso kann eine lebenslange Behandlung mit Angiopeptin diskutiert werden, da der protektive Effekt (erkennbar aus der geringeren Inzidenz in den Koronarangiographien nach 2 Jahren) im weiteren Beobachtungszeitraum geringer wird.

Diese Formen der Behandlung würde die Patienten in keinsten Weise gefährden, da das Medikament chronisch und ohne signifikante Komplikationen bei anderen Indikationen eingesetzt wird [386, 17].

Zusammenfassend kann unter Berücksichtigung der Ergebnisse aus dieser Untersuchung davon ausgegangen werden, dass die Langzeitbehandlung oder eine chronische Behandlung mit Angiopeptin eine potente oder sogar gänzliche Protektion vor einer Transplantatvaskulopathie nach Herztransplantation darstellen könnte.

6. Literaturverzeichnis

1. Agro A, Padol I, Stanisz AM. Immunomodulatory activities of the somatostatin analogue BIM 23014c: effects on murine lymphocyte proliferation and natural killer activity. *Regul Pept* 1991;32:129-39.
2. Akosah KO, Mohanty PK, Funai OT, Minisi AJ, Crandall CW, Kirchberg D, Guerraty A, Salter d. Noninvasive detection of transplant coronary artery disease by dobutamine stress echocardiography. *J Heart Lung Transplant* 1994;13:1024-1038.
3. Akyürek LM, Johnsson C, Lange D, Georgii-Hemming P, Larsson E, Fellström BC, Funa K, Tufveson G. Tolerance induction ameliorates allograft vasculopathy in rat aortic transplants. Influence of Fas-mediated apoptosis. *J Clin Invest* 1998;101:2889-99.
4. Akyürek ML, Wanders S, Aurivillius M, Larsson E, Funa K, Fellström BC. Effects of angiopeptin on transplant arteriosclerosis in the rat. *Transplant Int* 1995;8:103-10.
5. Al Hussein KA, Talbot T, Proud G, Taylor RMR, Shenton BK. The clinical significance of post-transplantation non-HLA antibodies in renal transplantation. *Transplant Int* 1995;8:214.
6. Alderton F, Fan TPD, Schindler M, Humphrey PPA. Rat somatostatin sst2a and sst2b receptor isoforms mediate opposite effects on cell proliferation. *Br J Pharmacol* 1998;125:1630-33.
7. Alderton F, Lauder H, Feniuk W, Fan TPD, Humphrey PPA. Differential effects of somatostatin and angiopeptin on cell proliferation. *Br J Pharmacol* 1998;124:323-330.
8. Allison AC, Eugui EM. Purine metabolism and immunosuppressive effects of mycophenolate mofetil (MMF). *Clin Transplan* 1996;10:77-84.
9. Alonso DR, Starek PK, Minick CR. Studies on the pathogenesis of atherosclerosis induced in rabbit cardiac allografts by the synergy of graft rejection and hypercholesterolemia. *Am J Pathol* 1977;87:415-42.
10. Ambrosioni E, Bacchelli S, Degle Esposti D, Borghi C. ACE-inhibitors and atherosclerosis. *Eur J Epidemiol* 1992;8:129-133.
11. Anderson HO, Holm P, Stender S, Hansen BF, Kjeldsen K, Nordestgaard BG. Relative importance of ischemic injury and immunological injury on the development of transplant arteriosclerosis in rabbit aortic allografts. *Transplantation* 1995;60:631-38.
12. Anderson HO, Madsen G, Nordestgaard BG, Hansen BF, Kjeldsen K, Stender S. Cyclosporin suppresses transplant arteriosclerosis in the aorta-allografted, cholesterol-clamped rabbit. Suppression preceded by decrease in arterial lipoprotein permeability. *Arterioscler Thromb* 1994;14:944-50.
13. Anderson HO, Qvortrup K, Rostgaard J, Nordestgaard BG. Effect of cyclosporine during initiation of transplant arteriosclerosis. An ultrastructural study in the aorta-transplanted rabbit. *Atherosclerosis* 1997;133:171-81.
14. Anderson HO, Holm P, Stender S, Hansen BF, Nordestgaard BG. Does-dependent suppression of transplant arteriosclerosis in aorta-allografted, cholesterol-clamped rabbits. Suppression not eliminated by the cholesterol-raising effect of cyclosporine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:2515-23.
15. Anderson TJ, Meredith IT, Uehata A. Functional significance of intimal thickening as detected by intravascular ultrasound early and late after cardiac transplantation. *Circulation* 1993;88:1093-100.
16. Anguita M, Alonso Pulpon L, Arizon JM, Cavero MA, Valles F, Segovia J, Perez Jimenez F, Crespo M, Concha M. Comparison of the effectiveness of lovastatin therapy for hypercholesterolemia after heart transplantation between patients with and without pretransplant atherosclerotic coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1994;74:776-9.

17. Anthony L, Johnson D, Hande K, Shaff M, Winn S, Krozely M, Oates J. Somatostatin analogue phase I trial in neuroendocrine neoplasms. *Acta Oncol* 1993;32(2):271-23.
18. Arai S, Taramato S, Senoo Y. The impact of FK506 on graft coronary disease of rat cardiac allograft: a comparison with cyclosporine. *J Heart Lung Transplant* 1992;11:757-62.
19. Ardehali A, Laks H, Drinkwater DC, Kato NS, Permut LC, Grant PW, Aharon AS, Drake TA. Expression of major histocompatibility antigens and vascular adhesion molecules on human cardiac allografts preserved in University of Wisconsin solution. *J Heart Lung Transplant* 1993;12:1044-1052.
20. Ardehali A, Laks H, Drinkwater DC, Ziv E, Drake TA. Vascular cell adhesion molecule-1 is induced in vascular endothelial and smooth muscle cells in experimental cardiac allograft vasculopathy. *Circulation* 1995;92:450-456.
21. Armitage JM, Kormos RL, Fung J et al. Preliminary experience with FK 506 in thoracic transplantation. *Transplantation* 1991;52:164-7.
22. Atkinson JB, Wudel JH, Hoff SJ, Stewart JR, Frist WH. Amlodipine reduces graft coronary artery disease in rat heterotopic cardiac allografts. *J Heart Lung Transplant* 1993;12:1036-43.
23. Auch-Schwelk W et al. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993;21:435.
24. Azuma H, Nadeau KC, Ishibashi M, Tilney NL. Prevention of functional, structural, and molecular changes of chronic rejection of rat allografts by a specific macrophage inhibitor. *Transplantation* 1995; 60:1577-82.
25. Bake JRJ, Kemmenenoe BH, McMartin C, Peters GE. Pharmacokinetics, distribution and elimination of a synthetic octapeptid analogue of somatostatin in the rat. *Regul Pept* 1984;9:213-216.
26. Ballantyne CM, Radovancevic B, Farmer JA, Frazier OH, Chandler L, Payton Ross C et al. Hyperlipidemia after heart transplantation: report of a 6-year experience, with treatment recommendations. *J Am Coll Cardiol* 1992;19:1315-21.
27. Barbir M, Banner N, Thompson GR, Khaghani A, Mitchel A, Yacoub M. Relationship of immunosuppression and serum lipids to the development of coronary artery disease in the transplanted heart. *Int J Cardiol* 1991;32:51-6.
28. Barbir M, Rose M, Kushwahw S, Akl S, Mitchell A, Yacoub M. Low-dose simvastatin for the treatment of hypercholesterolemia in recipients of cardiac transplantation. *Int J Cardiol* 1991;33:241-6.
29. Barr ML. Immunomodulation in transplantation with photopheresis. *Artif Organs* 1996;20:971-73.
30. Baumgarner GL et al. results of 3-year phase III clinical trials with daclizumab prophylaxis for prevention of acute rejection after renal transplantation. *Transplantation* 2001;72:839-45.
31. Bauters C, Belle EV, Wernert N et al. Angiopeptin inhibits oncogene induction in rabbit aorta after balloon denudation. *Circulation* 1994;89:2327-31.
32. Bauters C, de Groote P, Adamantidis M et al. Protooncogene expression in rabbit aorta after wall injury: first marker of the cellular process leading to restenosis after angioplasty? *Eur Heart J* 1992;13:556-59.
33. Becker DM, Markakis M, Sension M, Vitalis S, Baughman K, Swank R et al. Prevalence in hyperlipidemia in heart transplant recipients. *Transplantation* 1987;44:323-5.
34. Behr TM, Richter K, Fischer P, Spes CH, Meiser BM, Reichart B, Pongratz D, Feucht H, Theisen K, Angermann CE. Incidence of humoral rejection in heart transplant recipients treated with tacrolimus or cyclosporine A. *Transplant Proc* 1998;30:1920-1921.
35. Belzer FO, Southard JH. Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation* 1988;45:673-6.

36. Bengel FM et al. Effect of sympathetic reinnervation on cardiac performance after heart transplantation. *N Engl J Med* 2001;345(10):762-4.
37. Beniaminovitz A, Itescu S, Donovan M, Burke E, Webb J, Leitz E, Edwards N, Mancini D. Use of daclizumab decreases the frequency of early allograft rejection in de-novo heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:45.
38. Betz E, Weiss HD, Heinle H, Fotev Z. Calcium antagonists and atherosclerosis. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;18:71-5.
39. Bhatena SJ, Louie J, Schlechter GP, Redman RS, Whol L, Recant I, Identification of human mononuclear leukocytes bearing receptors for somatostatin and glucagon. *Diabetes* 1981;30:127-31.
40. Billingham ME. Cardiac transplant atherosclerosis. *Transplant Proc* 1987;19:19-25.
41. Billingham ME. Graft coronary disease: the lesions and the patients. *Transplant Proc* 1989;21:3665-6.
42. Billingham ME. Histopathology of graft coronary disease. *J Heart Lung Transplant* 1992;11:38-44.
43. Billingham ME. Pathology of graft vascular disease after heart and heart-lung transplantation and its relationship to obliterative bronchiolitis. *Transplant Proc* 1995;27:2013-2016.
44. Bleck JS, Thiesemann C, Kliem V, Christians U, Hecker H, Repp H et al. Diltiazem increases blood concentrations of cyclized cyclosporine metabolites resulting in different cyclosporine metabolite patterns in stable male and female renal allograft recipients.
45. Botas J, Pinto FJ, Chenzbraun A, Liang D, Schroeder JS, Oesterle SN, Alderman EL, Popp RL, Yeung AC. Influence of preexistent donor coronary artery disease on the progression of transplant vasculopathy: an intravascular ultrasound study. *Circulation* 1995;92(5):1126-1132.
46. Braendle D, Joergensen J, Zenke G, Bürki K, Hof RP. Contribution of donor-specific antibodies to acute allograft rejection. *Transplantation* 1998;65:1489-1493.
47. Briganti EM, Bergin PJ, Rosenfeldt FL, Esmore DS, Rabinov M. Successful long term outcome with prolonged ischemic time cardiac allografts. *J Heart Lung Transplant* 1995;14:840-5.
48. Briggs B, Vook N, Knight D, Sedmark D. Molecular mechanisms of adhesion molecule modulation by human cytomegalovirus. *Transplant Proc*. In press.
49. Brown F et al. Pharmacokinetics of valganciclovir and ganciclovir following multiple oral dosages of valganciclovir in HIV- and CMV-seropositive Volunteers. *Clin Pharmacokinet* 1999;37(2):167-176.
50. Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu Rev Biochem* 1983;52:223-61.
51. Bruns C, Weckbecker G, Raulf F et al. Molecular pharmacology of somatostatin-receptor subtypes. *Ann NY Acad Sci* 1994;733:138-46.
52. Bullingham RES, Nicholls A, Hale M. Pharmacokinetics of mycophenolat mofetil (RS1443): A short review. *Transplant Proc* 1996;28:925-9.
53. Butman SM. Hyperlipidemia after cardiac transplantation: be aware and possibly wary of drug therapy for lowering of serum lipids [editorial]. *Am Heart J* 1991;121:1585-90.
54. Calcagno D, Conte JV, Howell MH et al. *J Vasc Surg* 1991;13:475.
55. Caldwell DJ, Parr A, Beihn RM et al. Drug distribution and biliary excretion pattern of a cyclic somatostatin analog: a comparison of ¹⁴C labeled drug and a ¹³¹I iodinated drug analog. *Pharm Res* 1985;80:80-83.
56. Campana C, Iacona I, Regazzi MB, Gavazzi A, Perani G, Raddato V, Montemartini C, Vigano M. Efficacy and pharmacokinetics of simvastatin in heart transplant recipients. *Ann Pharmacother* 1995;29:235-9.

57. Carlos A Labarrere, Health C. Development of capillary antithrombin binding improves clinical outcome in cardiac transplant recipients. Changing concepts for the coronary circulation-perspectives beyond the usual-International symposium, June 10-12, 1999, Munich. Abstract.
58. Carrier M, Pelletier GB, Genest J, Cartier R, Leclerc Y, Pelletier LC. Cholesterol-lowering intervention and coronary artery disease after cardiac transplantation. *Ann Thorac Surg* 1994;57:353.
59. Cathapermal SS, Foegh ML, Rau C, Ramwell PW. Disposition and tissue distribution of angiopeptin in the rat. *Drug Metab Dispos* 1991;19:735-39.
60. Chen JC, Hsiang YN, Buchan AMJ. Somatostatin receptor expression in rat iliac arteries after balloon injury. *J Invest Surg* 1997;10:17-23.
61. Cohn JM, Wilensky RL, O'Donnell JA, Bourdillon PDV, Dillon JC, Feigenbaum H. Exercise echocardiography, angiography and intracoronary ultrasound after cardiac transplantation. *Am J Cardiol* 1996;77:1216-1219.
62. Colas B, Cambiilau C, Buscail L et al. Stimulation of a membrane tyrosine phosphatase activity by somatostatin analogues in rat pancreatic acinar cells. *Eur J Biochem* 1992;207:1017-24.
63. Corpier CL, Jones PH, Suki WN, Lederer ED, Quinones MA, Schmidt SW, Young JB. Rhabdomyolysis and renal injury with lovastatin use. Report of two cases in cardiac transplant recipients. *J Am Med Assoc* 1988;260:239-41.
64. Costanzo MR, Naftel DC, Pritzker MR, Hellman JK, Boehmer JP, Brozen SC, Deo WG, Ventura HO, Kirklin JK, Bourge RC, Miller LW. Heart transplant artery disease detected by angiography: a multi-institutional study. *J Heart Lung Transplant* 1996;15:39.(abstract).
65. Costanzo MR. Heart transplantation. *Curr Opin Cardiol* 1995;10:155-158. Editorial.
66. Costanzo-Nordin MR. Cardiac allograft vasculopathy: relationship with acute cellular rejection and histocompatibility. *J Heart Lung Transplant* 1995;11:90-103.
67. Cramer DV, Chapman FA, Wu GD, Harnaha JB, Qian SQ, Makowka L. Cardiac transplantation in the rat II. Alteration of the severity of donor graft arteriosclerosis by modulation of the host immune response. *Transplantation* 1990;50:554-8.
68. Crisp SJ, Dunn MJ, Rose ML, Barbir M, Yacoub M. Antiendothelial antibodies after heart transplantation: the accelerating factor in transplant-associated coronary artery disease. *J Heart Lung Transplant* 1994; 13:1381-1392.
69. Crisp SJ, Dunn MJ, Rose ML, Barbir M, Yacoub M. Antiendothelial antibodies after heart transplantation: the accelerating factor in transplant associated coronary artery disease. *J Heart Lung Transplant* 1994;14:81.
70. Curtis SB, Chen JC, Winkelaar G, Turnbull RG, Hewitt J, Buchan AMJ, Hsiang YN. Effect of endothelial and adventitial injury on somatostatin receptor expression. *Surgery* 2000;127:577-83.
71. Davis SF, Yeung AC, Meredith I, Charbonneau F, Ganz P, Selwyn AP, Anderson TJ. Early endothelial dysfunction predicts the development of transplant coronary artery disease at 1 year posttransplant. *Circulation* 1996;93:457-462.
72. Day JD, Rayburn BK, Gaudin BP, Baldwin WM III, Lowenstein CJ, Kasper BK, Baughman KL, Baumgartner WA, Hruban RH. Cardiac allograft vasculopathy: the central role of ischemia-induced endothelial cell injury. *J Heart Lung Transplant* 1995;14:142-149.
73. De Groot-Kruseman HA, Baan CC, Niesters H, Maat A, Balk A, Weimar W. Increased intragraft expression of TGF- β mRNA in patients with graft vascular disease after clinical heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:52.

74. DeCampi WM, Johnson DA, Gao SZ, Schroder JS, Billingham M, Stinson EB, Shumway NE. Transplant coronary vascular disease: histomorphometric properties and clinical correlations. *Curr Surg* 1988;45:477-80.
75. Deng MC - Arbeitsgruppe Thorakale Organtransplantation der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie - Herz- und Kreislaufforschung. Indikationen, Kontraindikationen und differentialtherapeutische Alternativen der Herztransplantation. *Z Kardiol* 1996; 85:519-27.
76. DeNofrio D, Loh E, Kao A, Korecka M, Acker MA, Shaw LM. Mycophenolic acid concentrations are associated with cardiac allograft rejection. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:46.
77. Densem CG, Hutchinson IV, Cooper A, Roberts T, Yonan N, Brooks NH. Low producers of TGF beta are protected from cardiac transplant vasculopathy. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:52.
78. Dong C, Wilson JE, Winters GL, McManus BM. Human transplant coronary artery disease: pathological evidence for Fas-mediated apoptotic cytotoxicity in allograft arteriopathy. *Lab Invest* 1996;74:921-931.
79. Drexler H, Fischell TA, Pinto FJ, Chenzbraun A, Botas J, cooke JP, Alderman ER. Effect of L-arginine on coronary endothelial function in cardiac transplant recipients. *Circulation* 1994;89:1615-23.
80. Dreyfus G, Jebara V, Mihaileanu AF, Carpentier AF. Total orthotopic heart transplantation: An alternative to the standard technique. *Ann Thorav Surg* 1991;52:1181-4.
81. Drinkwater DC, Rudis E, Laks H et al. University of Wisconsin solution versus Stanford cardioplegic solution and the development of cardiac allograft vasculopathy. *J Heart Lung Transplant* 1995;14:891-6.
82. Dunn MJ, Crisp SJ, Rose ML, Taylor PM, Yacoub MH. Antiendothelial antibodies and coronary artery disease after cardiac transplantation. *Lancet* 1992;339:566.
83. Duquesnoy RJ, Demetris AJ. Immunopathology of cardiac transplant rejection. *Curr Opin Cardiol* 1995;10:193-206.
84. Egan JJ et al. Valacyclovir prevention of cytomegalovirus reactivation after heart transplantation: a randomized trial. *J Heart and Lung Transplant* 2002;21(4):460-466.
85. Eich D, Thompson JA, Ko DJ, Hastillo A, Lower R, Katz S, Katz M, Hess ML. Hypercholesterinemia in long-term survivors of heart transplantation: an early marker of accelerated coronary artery disease. *J Heart Lung Transplant* 1991;10:45-9.
86. Emanuelsson H, Beatt KG, Bagger JP et al. Long-term effects of angiopeptin treatment in coronary angioplasty. Reduction of clinical events but not angiographic restenosis. *Circulation* 1995;91:1689-96.
87. Ennen MP, Poston RS, Feeley BT, Hoyt G, Robbins RC. Use of sequence specific oligodeoxynucleotides to inhibit myointimal proliferation associated with graft coronary artery disease. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:49.
88. Ensley RD, Hunt S, Taylor DO. Predictors of survival after repeat heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1992;11:142-58.
89. Eriksen UH, Amtorb UH, Bagger JP et al. Randomized double-blind Scandinavian trial of angiopeptin versus placebo for the prevention of clinical events and restenosis after coronary balloon angioplasty. *Am Heart J* 1995;130:1-8.
90. Escobar A, Ventura HO, Stapleton DD, Mehra MR, Ramec SR, Collins TC, Jain SP, White CJ. Cardiac allograft vasculopathy assessed by intravascular ultrasonography and nonimmunologic risk factors. *Am J Cardiol* 1994;74:1042-1046.
91. Everett JP, Hershberger RE, Norman DJ, Chou S, Ratkovec RM, Cobanoglu A, Ott GY, Hosenpud JD. Prolonged cytomegalovirus infection with viremia is associated with development of cardiac allograft vasculopathy. *J Heart Lung Transplant* 1992;11:133-7.

92. Farmer JA, Ballantyne CM, Frazier OH, Radovancevic B, Payton Ross C, Patsch W et al. Lipoprotein(a) apolipoprotein changes after cardiac transplantation. *J Am Coll Cardiol* 1991;18:926-30.
93. Fellström B, Backman U, Larsson E, Zezina L. Immunologic and nonimmunologic risk factors of chronic rejection. *Transplant Proc* 1999; 31:1304-1305.
94. Fellström B, Dimeny E, Foegh ML, Larsson E, Wanders A, Tufvesson G. Accelerated atherosclerosis in heart transplants in the rat simulating chronic vascular rejection: effects of prostacyclin and angiopeptin. *Transplant Proc* 1991;23:525-28.
95. Ferry BL, Welsh KI, Dunn MJ et al. Anti-cell surface endothelial antibodies in sera from cardiac and kidney transplant recipients: association with chronic rejection. *Transplant Immunol* 1997;5:17.
96. Fish RD, Nabel EG, Selwyn AP, Ludmer PL, Mudge GH, Kirschenbaum JM, Schoen FJ, Alexander RW, Ganz P. Response of coronary arteries of transplant patients to acetylcholine. *J Clin Invest* 1988;81:21-31.
97. Foegh ML, Asotra S, Conte JV, Howell M, Kagan E, Verma K, Ramwell PW. Early inhibition of myointimal proliferation by angiopeptin after balloon catheter injury in the rabbit. *J Vasc Surg* 1994;19(6):1084-91.
98. Foegh ML, Khirabadi BS, Chambers E, Amamoo S, Ramwell PW. Inhibition of coronary artery transplant atherosclerosis in rabbits with angiopeptin, an octapeptide. *Atherosclerosis* 1989;78:229-36.
99. Foegh ML, Khirabadi BS, Chambers E, Ramwell PW. Peptide inhibition of accelerated transplant atherosclerosis. *Transplant Proc* 1989;21:3674-76.
100. Foegh ML. Angiopeptin: a treatment for accelerated myointimal hyperplasia ? *J Heart Lung Transplant* 1992;11:28-31.
101. Frey AW, Dambacher M, Achakri H, Schwaiger M, Überfuhr P, Spandacini G, Bernardi L, Roskamm H. First evidence of parallel vagal and sympathetic reinnervation long term after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1992;16:88.abstract.
102. Fujinami RS, Nelson JA, Walker L, Oldstone MB. Sequence homology and immunologic cross-reactivity of human cytomegalovirus with human leucocyte antigen DR beta-chain: a means for graft rejection and immunosuppression. *J Virol* 1988;62:100-105.
103. Fukuo K, Hata S, Suhara T, Nakahashi T, Shinto Y, Tsujimoto Y, Morimoto S, Ogihara T. Nitric oxide induces upregulation of Fas and apoptosis in vascular smooth muscle. *Hypertension* 1996;27:823-826.
104. Gao SZ, Hunt SA, Schroeder JS, Alderman E, Hill IR, Stinsen EB. Does rapidity of development of transplant coronary artery disease portend a worse prognosis? *J Heart Lung Transplant* 1994;13:1119-1124.
105. Gao SZ, Hunt SA, Schroeder JS, Alderman EL, Hill IR, Stinson EB. Early development of accelerated graft coronary artery disease: risk factors and course. *J Am Coll Cardiol* 1996;28:673-679.
106. Gao SZ, Schroeder JS, Alderman EL, Hunt SA, Silverman JF, Wiederhold V, Stinson EB. Clinical and laboratory correlates of accelerated coronary artery disease in the cardiac transplant patient. *Circulation* 1987;76:56-61.
107. Gao SZ, Schroeder JS, Alderman EL, Hunt SA, Valentine HA, Wiederhold V, Stinson EB. Prevalence of accelerated coronary artery disease in heart transplant survivors. Comparison of cyclosporine and azathioprine regimes. *Circulation* 1989;80:111-5.
108. Gao SZ, Schroeder JS, Hunt S et al. Retransplantation for severe accelerated coronary artery disease in heart transplant recipients. *Am J Cardiol* 1988;62:878-81.
109. Geerling RA, de Bruin RW, Scheringa M, Bonthuis F, Jeekel J, Jzermans JN, Marquet RL. Suppression of acute rejection prevents graft arteriosclerosis after allogeneic aorta transplantation in the rat. *Transplantation* 1994;58:1258-63.

110. Geng YG, Wu Q, Muszynski M, Hansson GK, Libby P. Apoptosis of vascular smooth muscle cells induced by in vitro stimulation with interferon- γ , tumor necrosis factor- α and interleukin- 1β . *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:19-27.
111. Gibbons GH. The pathogenesis of graft vascular disease: implications of vascular remodeling. *J Heart Lung Transplant* 1995;14:149-158.
112. Glowacki LS, Smaill FM. Use of immune globulin to prevent symptomatic cytomegalovirus disease in transplant recipients – A meta-analysis. *Clinical Transplantation* 1994;8:10-8.
113. Goar FG, Pinto FJ, Aldermann EL, Valentine HA, Schroeder JS, Gao SZ, Stinson EB, Popp RL. Intracoronary ultrasound in cardiac transplant recipients: in vivo evidence of angiographically silent intimal thickening. *Circulation* 1992;85:979-987.
114. Gohra H, McDonald TO, Verrier ED, Aziz S. Endothelial loss and regeneration in a model of transplant arteriosclerosis. *Transplantation* 1995;60:96-102.
115. Goldstein DJ, Zuech N, Sehgal V, Weinberg AD, Drusin R, Cohen D. Cyclosporine-associated end-stage nephropathy after cardiac transplantation: incidence and progression. *Transplantation* 1997;63:664-8.
116. Gottlieb RA, Burlison KO, Kloner RA, Babior BM, Engler RL. Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes. *J Clin Invest* 1994;94:1621-8.
117. Götze S et al. *Eur Heart J* 1993;14 (suppl x):1.
118. Grady KL, Costanzo Nordin MR, Herold LS, Srinivasan S, Pifarre R. Obesity and hyperlipidemia after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1991;10:449-54.
119. Grattan MT, Moreno-Cabral CE, Stames VA, Oyer PE, Stinson EB, Shmway NE. Cytomegalovirus infection is associated with cardiac allograft rejection and atherosclerosis. *JAMA* 1989;261: 3561-3566.
120. Greenberg A, Thompson ME, Griffith BJ, Hardesty RL, Kormos RL, El-Shahawy MA et al. Cyclosporine nephrotoxicity in cardiac allograft patients – a seven-year follow-up. *Transplantation* 1990;50:589-93.
121. Gregory CR, Huang X, Pratt RE, Dzau VJ, Shorthouse R, Billingham ME, Morris RE. Treatment with rapamycin and mycophenolic acid reduces arterial intimal thickening produced by mechanical injury and allows endothelial replacement. *Transplantation* 1995;59:655-61.
122. Groetzner J, Meiser BM, Müller M, Kaczmarek I, Buehse L, Vogeser M, Schirmer J, Koglin J, Reichart B. Calcineurin-inhibitor-free immunosuppression with Sirolimus and Mycophenolatmofetil after cardiac transplantation is safe and improves renal function significantly. In press.
123. Gulizia JM, Kandolf R, Kendall TJ, Thieszen SL, Wilson JE, Radio SJ, Costanzo MR, Winters GL, Miller LL, McManus BM. Inrequence of cytomegalovirus genome in coronary arteriopathy of human heart allografts. *Am J Pathol* 1995;147:461-475.
124. Gummert JF, Barten MJ, Wang Y, Billingham ME, Morris RE. Therapeutic monitoring of mycophenolic acid (MPA): assays of immun function in peripheral blood predict efficacy for inhibition of histologic graft rejection. *J Heart Lung Transplant* 1999,18:53.
125. Halle AA, DiSciascio G, Massin EK. Coronary angioplasty, atherectomy and bypass surgery in cardiac transplant recipients. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:120-8.
126. Hancock WW, Buelow R, Sayegh Mh, Turka LA. Antibody-induced transplant arteriosclerosis is prevented by graft expression of anti-oxidant and anti-apoptotic genes. *Nat Med* 1998;4:1392-96.
127. Handa N, Hatanaka M, Baumgartner WA, Reitz BA, Sandford G, Eas AH, Herskowitz A. Late cyclosporine treatment ameliorates established coronary graft disease in rat allografts. *Transplantation* 1993;56:535-40.

- 128.Hartmann A, Mazzilli N, Weis M, Olbrich HG, Burger W, Satter P. Time course of endothelial function in epicardial conduit coronary arteries and in the microcirculation in the long-term follow-up after cardiac transplantation. *Int J Cardiol* 1996;53:127-136.
- 129.Hartmann A, Weis M, Olbrich HG, Cieslinski G, Schacherer C, Burger W, Beyersdorf F, Schröder R. Endothelium-dependent and endothelium-independent vasomotion in large coronary arteries and in the microcirculation after cardiac transplantation. *Eur Heart J*1994;15:1486-1493.
- 130.Hauptmann PJ, Davis SF, Miller L, Yeung AC. The role of nonimmune risk factors in the development and progression of graft arteriosclerosis: preliminary insights from a multicenter intravascular ultrasound study. *J Heart Lung Transplant* 1995;14:238-242.
- 131.Hauser I, Johnson DR, Thevenod F. Mycophenolate mofetil increases tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) induced expression of vascular cell adhesion molecule I (VCAM-1) and of E-Selectin on human venous endothelial cells. *FASEBJ* 1996;10:3612(abstract).
- 132.Haverich A, Costard-Jäckle A, Cremer J, Herrmann G, Simon R. Cyclosporin A and transplant coronary disease after heart transplantation: facts and fiction. *Transplant Proc* 1994;26:2713-2715.
- 133.Hess ML, Hastillo A, Mohanakumar T, Cowley MJ, Vetrovac G, Szentpetery S et al. Accelerated atherosclerosis in cardiac transplantation: role of cytotoxic B-cell antibodies and hyperlipidemia. *Circulation* 1983;68:94-101.
- 134.Hess ML, Hastillo A, Thompson JA, Sansonetti DJ, Szentpetery S, Barnhart G, Lower RR. Lipid mediators in organ transplantation: does cyclosporine accelerate coronary atherosclerosis? *Transplant Proc* 1987;19:71-3.
- 135.Hidalgo L, Zambrans JL, Blanco Molina A, Lopez Granados A, Concha M, Casares J, Jimenez Perez J, Lopez Miranda J, Perez Jimenez F. Lovastatin versus bezafibrate for hyperlipidemia treatment after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1995;14:461-7.
- 136.Hisatomi K, Isomura T, Ohashi M, Tamehiro K, Sato T, Tayama E, Ohishi K, Kohjiro M. Effect of dose of cyclosporine or FK506 and antithrombotic agents on cardiac allograft vascular disease in heterotopically transplanted hearts in rats. *J Heart Lung Transplant* 1995;14:113-8.
- 137.Hjelms E, Stender S. Accelerated cholesterol accumulation in homologous arterial transplants in cholesterol-fed rabbits. A surgical model to study transplantation atherosclerosis. *Arterioscler Thromb* 1992;12:771-9.
- 138.Holzgrevé H, Burkle B. Anti-atherosclerotic effects of calcium antagonists. *J Hypertens* 1993;11:55-9.
- 139.Hornick PI, Mason PD, Yacoub MH et al. Assessment of the contribution that direct allorecognition makes to the progression of chronic cardiac transplant rejection in humans. *Circulation* 1998;97:1257-63.
- 140.Hosenpud JD, Bennett LE, Keck BM, Boucek MM, Novick RJ. The registry of the international society for heart and lung transplantation: eighteenth official report-2001. *J Heart Lung Transplant* 2001;20:805-815.
- 141.Hosenpud JD, Bennett LE, Keck BM, Fiore B, Novick RJ. The registry of international society of heart and lung transplantation: fourteenth official report – 1997. *J Heart Lung Transplant* 1997;16:691-712.
- 142.Hosenpud JD, Novick RJ, Bennett LE, Keck BM, Fiore B, Daily OP. The registry of International Society for Heart and Lung Transplantation: 13th Official Report - 1996. *J Heart Lung Transplant* 1996;15:655-74.
- 143.Hullett DA. Gene therapy in transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1996;15:857-62.

144. Human PA, Holl J, Vosloo S et al. Extended cardiopulmonary preservation: University of Wisconsin solution versus Bretschneider's cardioplegic solution. *Ann Thorac Surg* 1993;55:1123-30.
145. Ikonen TS, Gummert JF, Honda Y, Hayase M, Christians U, Serkova N, Hausen B, Yock PG, Morris RE. Sirolimus (Rapamycin) blood levels correlate with prevention of graft vascular disease (GVD) in monkey aortic transplants as monitored by intravascular ultrasound. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:72.
146. Iwasaki K, Shiraga T, Matusuda H, Nagase K. Identification and biological activities of the metabolites oxidized at multiple sites of FK506: *Drug Metab Dispos* 1995;22:28-34.
147. Iwata A, Sai S, Chen M et al. Intraoperative liposome-mediated gene transfection of nitric oxide synthase (eNOS) reduces ischemia-reperfusion injury in transplanted hearts. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:37(Abstract).
148. Lee JR, Yang J-H, Kim EK, Seo JW. Effect of angiotensin II and aspirin on accelerated graft atherosclerosis in transplanted mouse heart. *J Korean Med Sci* 1999;15:607-12.
149. Jaeger BR, Thiery J, Nagel D et al. Aggressive lowering of fibrinogen and cholesterol in the prevention of graft vessel disease after heart transplantation. *Circulation* (in press).
150. Jain SP, Ventura HO, Ramee SR et al. Directional coronary atherectomy in heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 1993;12:819-23.
151. Jakobs KH, Aktories K, Schutz G. A nucleotide regulatory site for somatostatin inhibition of adenyl cyclase in S49 lymphoma cells. *Nature* 1983;303:177-78.
152. John R, Chen JM, Weinberg A et al. Long-term survival after cardiac retransplantation: a twenty-year single center experience. *J Thorac Cardiol Surg* 1999;117:543-55.
153. Johnson DE, Aldermann EL, Schroeder JS, Siverman JF, Hunt SA, De Campli WM, Stinson EB, Billingham M. Transplant coronary artery disease: histopathological correlations with angiographic morphology. *J Am Coll Cardiol* 1991;17:449-457.
154. Johnson DE, Gao SZ, Schroeder JS, DeCampli WM, Billingham ME. The spectrum of coronary artery pathologic findings in human cardiac allografts. *J Heart Transplant* 1989;8:349-359.
155. Johnson et al. Sirolimus allows early cyclosporine withdrawal in renal transplantation resulting in improved renal function and lower blood pressure. *Transplantation* 2001;72:777-786.
156. Johnson M. Transplant coronary disease: nonimmunologic risk factors. *J Heart Lung Transplant* 1992;11:124-132.
157. Jonasson L, Holm J, Skalli O, Bondjers G, Hansson GK. Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis* 1986;6:131-8.
158. Juilliere Y, Barbier G, Feldmann L, Grentzinger A, Danchin N, Cherrier F. Additional predictive value of both left and right ejection fractions on long term survival in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 1997;18:276-80.
159. Jurcevic S, Dunn MJ, Crisp S, Busing K, Rinaldi M, Pellegrini C, Yacoub MH, Vigano M, Banner NL, Rose ML. A new enzyme-linked immunosorbent assay to measure anti-endothelial antibodies after cardiac transplantation demonstrates greater inhibition of antibody formation by tacrolimus compared with cyclosporine. *Transplantation* 1998;65:1197-1202.
160. Kahan BD and Camardo JS. Rapamycin: Clinical results and future opportunities. *Transplantation* 2001;72:1181-1193.
161. Kahan BD et al. Reduction of the occurrence of acute cellular rejection among renal allograft recipients treated with basiliximab, a chimeric anti-leukin-2-receptor monoclonal antibody. *Transplantation* 1999;67:276-84.

162. Kao W, McGee D, Liao Y. Does heart transplantation confer additional benefit over medical therapy to patients who have waited > 6 months for heart transplantation? *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1547-51.
163. Kato T, Maehara A, Chan M, Gianetti N, Gao S-Z, Schroeder J, Hunt SA, Valentine HA. Hemoglobin A1C predicts of transplant coronary artery disease incidence and severity. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:50.
164. Katznelson S, Kobashigawa JA. Dual roles of HMG-CoA reductase inhibitors in solid organ transplantation: Lipid lowering and immunosuppression. *Kidney Int Suppl* 1995;52:112-5.
165. Kawauchi M, Gundry SR, Begona JA, Fullerton DA, Razzouk AJ, Boucek M, Kanakriyeh M, Bailey LL. Prolonged preservation of human pediatric hearts for transplantation: correlation of ischemic time and subsequent function. *J Heart Lung Transplant* 1993;12:55-8.
166. Kaye MP. The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Tenth Official Report—1993. *J Heart Lung Transplant* 1993;12:541-548.
167. Kemm MS, Valentine HA, Hunt SA, Schroeder JS, Chen J-D, Raven GM. Metabolic risk factors for atherosclerosis in heart transplant recipients. *Am Heart J* 1994;128:68-72.
168. Kendall TJ, Wilson JE, Radio SJ, Kandolf R, Gulizia JM, Winters GL, Costanzo Nordin MR, Malcom GT, Thieszen SL, Miller LW et al. Cytomegalovirus and other herpesviruses: do they have a role in the development of accelerated coronary arterial disease in human heart allografts? *J Heart Lung Transplant* 1992;11:14-20.
169. Kent KM, Williams DO, Cassagneau B, Broderick T, Chapekis A, Simpfendorfer C, Giles C, Bates E, Tauscher G, Kuntz RE, Pompa JJ, Foegh M. Double blind controlled trial of the effect of angiopeptin on coronary restenosis following balloon angioplasty [Abstract]. *Circulation* 1993;88:I-506.
170. Klauss V, Pethig K, Kalies H, Pichlmayer E, Heublein B, Rieber J, Spes CH, Reichart B, Sibert U, Haverich A, Mudra H. Intravascular ultrasound has prognostic impact after heart transplantation: a multivariable analysis in a large patient cohort. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:50.
171. Klauss V. Intravascular ultrasound. Changing concepts for the coronary circulation—perspectives beyond the usual - International symposium, June 10-12, 1999, Munich. Abstract.
172. Klepetko et al. Prospective, randomized trial comparing induction therapy daclizumab or rabbit antimyocyte globulin versus no induction after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2002;21:66.
173. Knight RJ, Dikman S, Liu H, Martinelli GP. Cold ischemic injury accelerates the progression to chronic rejection in a rat cardiac allograft model. *Transplantation* 1997;64:1102-7.
174. Kobashigawa JA, Katznelson S, Laks H et al. Effects of pravastatin on outcome after cardiac transplantation. *N Engl J Med* 1995;333:621-7.
175. Kobashigawa JA, Murphy FL, Stevenson LW, Moriguchi JD, Kawara N, Kamjoo P et al. Low-dose lovastatin safely lowers cholesterol after cardiac transplantation. *Circulation* 1990;82:281-3.
176. Kobashigawa JA, Ro TK, Moriguchi JD, Lee R, Cassem JD, Hamilton MA, Hage A, Kawata N, Laks H. Hemodynamic compromising rejection is associated with increased incidence of transplant coronary artery disease in cardiac transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:50.
177. Kobayashi J, Crawford SE, Backer CL, Zales VR, Takami H, Hsueh C, Huang L, Mavroudis C. Captopril reduces graft coronary artery disease in a rat heterotopic transplant model. *Circulation* 1993;88:286-90.

- 178.Koch B, Schonbrunn A. The somatostatin receptor is directly coupled to adenylate cyclase in GH₄C₁ pituitary cell membranes. *Endocrinology* 1984;114:1784-90.
- 179.Koegh A, Simons L, Spratt P, Esmore D, Chang V, Hickie J, Baron D. Hyperlipidemia after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1988;7:171-5.
- 180.Koegh A. Three-year results of the double blind randomized multicenter trial of mycophenolate mofetil in heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:53(Abstract).
- 181.Koegh A, Baron DW, Hickie JB. Prognostic guides in patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy assessed for heart transplantation. *AM J Cardiol* 1990;65:903-8.
- 182.Koegh A, Valantine HA, Hunt SA, Schroder JS, McIntosh N, Oyer PE, Stinson EB. Impact of proximal or midvessel discrete coronary artery stenoses on survival after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1992;11:892-901.
- 183.Koglin J, Gross T, Überfuhr P, Scheidt von W. Time-dependent decrease of presynaptic inotropic supersensitivity verifies the physiological relevance of sympathetic reinnervation after cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant* (in press).
- 184.Koglin J, Überfuhr P, Scheidt von W. Parasympathatic denervation supersensitivity of the transplanted human ventricle in vivo. *Am J Physiol* 1996;271:H435-9.
- 185.Kosek JC, Hurley E, Lower RR. Histopathology of orthotopic canine cardiac homografts. *Lab. Invest.* 1968;19:97-112.
- 186.Koskinen P, Lemstrom K, Bruggeman C, Lautenschlager I, Häyry P. Acute cytomegalovirus infection induces a subendothelial inflammation (endothelitis) in the allograft vascular wall. A possible linkage with enhanced allograft arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1994;144:41-50.
- 187.Koskinen PK, Krogerus LA, Nieminen MS, Mattila SP, Häyry PJ, Lautenschlager IT. Quantitation cytomegalovirus infection-associated histologic findings in endomyocardial biopsies of heart allografts. *J Heart Lung Transplant* 1993;12:343-54.
- 188.Koskinen PK, Lemstrom KB, Hayry PJ. How cyclosporine modifies histological and molecular events in the vascular wall during chronic rejection of the rat cardiac allograft. *Am J Pathol* 1995;146:972-80.
- 189.Koskinen PK, Nieminen MS, Krogerus LA, Lemstrom KB, Mattila SP, Häyry PJ, Lautenschlager IT. Cytomegalovirus infection and accelerated cardiac allograft vasculopathy in human cardiac allografts. *J Heart Lung Transplant* 1993;12:724-9.
- 190.Koskinen PK. The association of the induction of vascular cell adhesion molecule-1 with cytomegalovirus antigenemia in human heart allografts. *Transplantation* 1993;56:1103-08.
- 191.Kugiyama K, Kerns SA, Morrisett JD, Robbers R, Henry PD. Impairment of endothelium dependent arterial relaxation of arterial smooth muscle by lysolecithin in modified low density lipoproteins. *Nature* 1990;344:160-162
- 192.Kuhn JM, Basin C, Baudoin C et al. Influence de la dose et des modalités d'administration du BIM 23014 sur la sécrétion d'hormone de croissance de l'acromégale. *Ann Endocrinol* 1992;53:208-14.
- 193.Kuhn JM, Basin C, Moilard M et al. Pharmacokinetic study and effects on growth hormone secretion in healthy volunteers of the new somatostatin analogue BIM 23014. *Eur J Clin Pharmacol* 1993; 45:73-77.
- 194.Kuhn JM, Legrand A, Ruiz JM et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of a long-acting formulation of the new somatostatin analogue, lanreotide, in normal healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 1994;38:213-19.
- 195.Kunz J, Hall MN. Cyclosporin A, FK 506 and rapamycin; more than just immunosuppression. *Trends Biochem Sci* 1993;18:334-8.

- 196.Kuo PC, Kirshenbaum JM, Gordon J, Laffel G, Young P, DiSease VJ, Mudge GH, Vaughan DE. Lovastatin therapy for hypercholesterolemia in cardiac transplant recipients. *Am J Cardiol* 1989;64:631-5.
- 197.Kuwahara M, Jacobsson J, Kagan E, Ramwell PW, Foegh ML. Coronary artery ultrastructural changes in cardiac transplant atherosclerosis in the rabbit. *Transplantation* 1991;52:759-65.
- 198.Labarrere CA, Pitts D, Nelson DR, Faulk WP. Coronary artery disease in cardiac allografts: association with arteriolar endothelial HLA-DR and ICAM-1 antigens. *Transplant Proc* 1995;27:1939-1940.
- 199.Labarrere CA, Pitts D, Nelson DR, Faulk WP. Vascular tissue activator and the development of coronary artery disease in heart-transplant recipients. *N Engl J Med* 1995;333:1111-1116.
- 200.Land W, Messmer K. The impact of ischemic/reperfusion injury on specific and non-specific early and late chronic events after organ transplantation. *Transplant Rev* 1996;10:108-27.
- 201.Lanzavecchia A. *Annu Rev Immunol* 1990;8:773-793.
- 202.Law S, Manning D, Reisine T. Identification of the subunits of GTP binding proteins coupled to somatostatin receptors. *J Biol Chem* 1991;266:7885-97.
- 203.Law S, Yasuda K, Bell GI, Reisine T. $G\alpha_3$ and $G\alpha_4$ selectively associate with the cloned somatostatin receptor subtype SSTR 2. *J Biol Chem* 1993;268:10721-27.
- 204.Law S, Woulfe D, Reisine T. Mini review. Somatostatin receptor activation of cellular effector systems. *Cell Signal* 1995;1:1-8.
- 205.Lemaire M, Azria M, Dannecker R, Marbach P, Schweitzer A, Maurer G. Disposition of sandostatin, a new synthetic somatostatin analogue, in rats. *Drug Metabol Dispos* 1989;17:699-703.
- 206.Lemström K, Koskinen P, Krogerus L, Daemen M, Bruggeman C, Hayry P. Cytomegalovirus antigen expression, endothelial cell proliferation, and intimal thickening in rat cardiac allografts after cytomegalovirus infection. *Circulation* 1995;92:2594-604.
- 207.Lemström KB, Bruning JH, Bruggeman CA, Koskinen PK, Aho PT, Yilmaz S, Lautenschlager IT, Häyry PJ. Cytomegalovirus infection-enhanced allograft arteriosclerosis is prevented by DHPG prophylaxis in the rat. *Circulation* 1994;90:1969-78.
- 208.Lemström KB, Bruning JH, Bruggeman CA, Lautenschlager IT, Häyry PJ. Cytomegalovirus infection enhances smooth muscle cell proliferation and intimal thickening of rat aortic allografts. *J Clin Invest* 1993;92:549-58.
- 209.Lemström KB, Bruning JH, Bruggeman CA, Lautenschlager IT, Hayra P. Triple drug immunosuppression significantly reduces immune activation and allograft arteriosclerosis in cytomegalovirus-infected rat aortic allografts and induces early latency of viral infection. *Am J Pathol* 1994;144:1334-47.
- 210.Leszczynski D, Josephs MD, Fournier RS, Foegh ML. Angiopeptin, the octapeptide analogue of somatostatin, decreases rat heart endothelial cell adhesiveness for mononuclear cells. *Regul Pept* 1993;43:131-40.
- 211.Leszczynski D, Zhao Y, Cathapermal SS, Nilsson J, Foegh ML. Rat heart smooth muscle cells express high and low affinity receptors for somatostatin-14, which are involved in regulation of cell proliferation. *Life Sci* 1993;53:1663-74.
- 212.Leszczynski D, Zhao Y, Luokkamäki M, Foegh ML. Apoptosis in smooth muscle cells. Protein kinase C and oncoprotein Bcl-2 are involved in regulation of apoptosis in nontransformed rat vascular smooth muscle cells. *Am J Pathol* 1994;145:1265-1270.
- 213.Leyen von der H, Gibbons GH, Morishita et al. Gene therapy inhibiting neointimal vascular lesion: in vivo transfer of endothelial cell nitric oxide synthase gene. *Proc Natl Acad Sci* 1995;92:1137-41.

- 214.Libby P, Swanson SJ, TanakaH. Immunopathology of coronary atherosclerosis in transplanted hearts. *J Heart Lung Transplant* 1992;11:5-6.
- 215.Light JT, Bellen JA, Chen IL et al. Angiopeptin enhances acetylcholine-induced relaxation and inhibits intimal hyperplasia after vascular injury. *Am J Physiol* 1993;265:HI265-74.
- 216.Lim TT, Botas J, Liang DH, Schroeder JS, Oesterle SN, Popp RL, Yeung AC. Does compensatory dilation occur in heart transplant recipients with progressive coronary artery disease? Serial studies using intravascular ultrasound. *Circulation* 1994;90(part 2):3439(abstract).
- 217.Liu J, Farmer JD, Lane WS, Freidman J, Weissman I, Schreiber SL. Calcineurin is a common target of cyclophilin-cyclosporin A and FKBP-FK506 complexes. *Cell* 1991;66:807-15.
- 218.Loebe M, Schüller S, Zais O, Warnecke H, Fleck E, Hetzer R. Role of cytomegalovirus infection in the developpement of coronary artery disease in the transplanted heart. *J Heart Lung Transplant* 1990;9:707-11.
- 219.Lothar Sachs; *Angewande Statistik*, 7. Auflage, 1992, Springer Verlag.
- 220.Lou H, Kodama T, Wang YN, Katz NM, Foegh ML. L-arginine modulates vascular cell proliferative response to IGF-1 and IL-6 in cardiac transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 1996;15:39 (abstract).
- 221.Lou H, Kodoma T, Maurice PF et al. Angiopeptin suppresses T-lymphocyte, macrophage infiltration and MHC class II antigen in the coronary artery following cardiac transplantation. *Circulation* 1995;92 (suppl I):I-704.
- 222.Lou H, Kodoma T, Zhao YJ et al. Inhibition of transplant coronary arteriosclerosis in rabbits by chronic estradiol treatment is associated with abolition of MHC class II antigen expression. *Circulation* 1996;94:3355-61.
- 223.Lozano MD. Microvascular coronary arterial vasculopathy {MCAV}: myocardial pathology resulting from MCAV and predictive value of endomyocardial biopsy (EMB). Changing concepts for the coronary circulation-perspectives beyond th eusual-International symposium, June 10-12,1999, Munich. Abstract.
- 224.Lundergan C, Foegh ML, Vargas R et al. Inhibition of myointimal proliferation of the rat carotid artery by the peptides angiopeptin and BIM 23034. *Atherosclerosis* 1989;80:49-55.
- 225.Lurie KG, Billingham ME, Jamieson SW, Harrison DC, Reitz BA. Pathogenesis and prevention of graft arteriosclerosis in an experimental heart transplantat model. *Transplantation* 1981;31:41-7.
- 226.Mancini DM, Eisen H, Kussmaul W, Mull R, Edmunds LH, Wilson JR. Value of peak exercise oxygen consumption for optimal timing of cardiac transplantation in ambulatory patients with heart failure. *Circulation* 1991;83:778-86.
- 227.Mandeep R Mehra, Prasad A, Patricia A Uber, Park M, Scott R. The impact of explosive brain death on the genesis of cardiac allograft vasculopathy: an intravascular ultrasound study. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:49.
- 228.Masseti P, DiSesa VJ, Schooen FJ, Sun SC, Byrne JG, Appleyrd RF, Laurence R, Cohn LH. Ischemic injury before heart transplantation does not cause coronary arteriopathy in experimental isografts. *J Heart Lung Transplant* 1991;10:597-99..
- 229.Matsuda T, Motomura M, Oka T. Angiopeptin as a potent inhibitor of myointimalhyperplasia: systemic injection and local administration via impregnation in a biodegradable polymeric gel. *ASAIO J* 1993;39:M512-17.
- 230.Mawulawde K, Pins MR, Menard MT, Yamada K, Allan JS, Slisz JK, Sachs DH, Madsen JC. Effects of MHC class II antigens on the developement of cardiac allograft vasculopathy in miniature swine. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:53.

231. Mc Fadden PM, Robbins RJ, Ochsner JL et al. Transmyocardial revascularization for cardiac transplantation allograft vasculopathy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998;115:1385-88.
232. Mc Curry KR, Pham SI, Zeevi A, Webber S, Rao A, Ostrowski L, Salgar S, Starzl TE, Bentlejewski C, Keenan RJ, Fung J, Griffith BP. Immunomodulatory effects of donor bone marrow infusion in heart or lung transplantation: five year experience. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:72.
233. McDonald K, Rector TS, Braunlin EA, Kubo SH, Olivari MT. Association of coronary artery disease in cardiac transplant recipients with cytomegalovirus infection. *Am J Cardiol* 1989;64:359-62.
234. McManus BM, Horley KJ, Wilson JE, Malcom GT, Kendall TJ, Miles RR, Winters GL, Costanzo RR, Miller LL, Radio SJ. Prominence of coronary arterial wall lipids in human heart allografts. *Am J Pathol* 1995;147:293-308.
235. McMartin C, Purdon GE. Early fate of somatostatin in the circulation of the rat after intravenous injection. *J Endocrinol* 1987;77:67-74.
236. McNamara DB, Light JT, Bellan JA et al. Angiopeptin enhances recovery of neoendothelial-dependent, acetylcholine-induced relaxation and inhibits intimal hyperplasia following balloon catheter injury in the rabbit aorta. *J Vasc Res (Abstr)* 1992;29:166-66.
237. Mehra MR, Stapleton DD, Ventura HO, Escobar A, Cassidy CA, Smart FW, et al. Influence of donor and recipient gender on cardiac allograft vasculopathy. An intravascular ultrasound study. *Circulation* 1994;90:78-82.
238. Mehra MR, Ventura HO, Chambers R, Collins TJ, Ameer SR, Kates MA, Smart FW, Stapleton DD. Predictive model to assess risk for cardiac allograft vasculopathy: an intravascular ultrasound study. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1537-44.
239. Mehra MR, Ventura HO, Chambers R, Smart FW, Stapleton DD. The Prognostic impact of immunosuppression and cellular rejection on cardiac allograft vasculopathy: time for a reappraisal. *Circulation* 1995;92:I-245(abstract).
240. Mehra MR, Ventura HO, Sapleton DD, Smart FW, Collins TJ, Ramee SR. Presence of severe intimal thickening by intravascular ultrasonography predicts cardiac events in cardiac allograft vasculopathy. *J Heart Lung Transplant* 1995;14:632-639.
241. Mehra MR, Ventura HO, Smart FW, Collins TJ, Ramee SR, Stapleton DD. An intravascular ultrasound study of the influence of angiotensin-converting enzyme inhibitors and calcium entry blockers on the development of cardiac allograft vasculopathy. *Am J Cardiol* 1995;75:853-4.
242. Meiser BM, Überfuhr P, Martin S, Fuchs A, Schmidt D, Pfeiffer M et al. Single-center randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in the prevention of acute myocardial rejection. *J Heart Lung Transplant* 1998;17:775-81.
243. Meiser BM, Billingham ME, Morris RE. Effects of cyclosporin, FK506 and rapamycin on graft vessel disease. *Lancet* 1991;338:1297-8.
244. Meiser BM, Groetzner J, Kaczmarek I, Landwehr P, Mueller M, et al. Tacrolimus or cyclosporine: which is the better partner for mycophenolate mofetil in heart transplant recipients? *Transplantation* 2004;78(4):591-98.
245. Meiser BM, Reichart B. Graft vessel disease: the impact of immunosuppression and possible treatment strategies. *Immunol Rev* 1993;134:99-116.
246. Meiser BM, Reichart B. New agents and new strategies in immunosuppression after heart transplantation. *Cur Opin in Organ Transplantation* 2002;7:226-32.
247. Meiser BM, Reichart B. New trends in clinical immunosuppression. *Transplant Proc* 1994;26:3181-3.
248. Meiser BM, Reiter C, Ebel M et al. A new chimeric monoclonal CD4 antibody for prevention of rejection after heart transplantation. *Transplant Proc* 1992; 24:1734.

- 249.Meiser BM, Reiter C, Reichenspurner H et al. Chimeric monoclonal CD4 antibody - A novel immunisuppressant for clinical heart transplantation. *Transplantation* 1994;58:419-23.
- 250.Meiser BM, Scheidt von W, Mair H, Kreuzer E, Überfuhr P, Reichart B. Short-term angiopeptin treatment significantly reduces intimal proliferation after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1995;14:56.
- 251.Meiser BM, Überfuhr P, Martin S et al. Randomised trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporin in the prevention of acute myocardial rejection. *Circulation* (submitted).
- 252.Meiser BM, Überfuhr P, Pfeiffer M et al. The immunosuppressive efficacy of the combination of tacrolimus, mycophenolate mofetil and corticosteroids after Htx is highly dependent on MMF trough levels. *J Heart Lung Transplant* 1997;16:44.
- 253.Meiser BM, von Scheidt W, Weis M, Kur F, Koglin J, Reichenspurner H, Überfuhr P, Reichart B. Herztransplantation - State of the Art Today. *Herz* 1997;22:237-52.
- 254.Meiser BM, Wang J, Morris RE. Rapamycin: a new and highly active immunosuppressive macrolide with an efficacy superior to cyclosporin. In: Melchers et al, eds. *Progress in immunology*, Vol.7. Heidelberg: Springer, 1989:1185-98.
- 255.Meiser BM, Wenke K, Thiery et al. Prevention and treatment of graft vessel disease after heart transplantation. *Transplant Proc* 1995;27:1931-5.
- 256.Meiser BM, Wenke K, Thiery J et al. Simvastatin decreases accelerated graft vessel disease after heart transplantation in an animal model. *Transplant Proc* 1993;25:2077-9.
- 257.Meiser BM, Wolf S, Devens C et al. Continuous infusion of angiopeptin significantly reduces accelerated graft vessel disease induced by FK506 in a rat heart allograft model. *Transplant Proc* 1992;24:1671-2.
- 258.Menasche P, Termignon JL, Pradier F et al. Experimental evaluation of Celsior, a new heart preservation solution. *Eur J Cardiothorac Surg* 1994;8:297-313.
- 259.Mennander A, Paavonen T, Häyry P. Intimal thickening and medial necrosis in allograft arteriosclerosis (chronic rejection) are independently regulated. *Arterioscler Thromb* 1993;13:1019-1025.
- 260.Mennander A, Räisänen A, Paavonen T, Häyry P. Chronic rejection in rat aortic allograft. V. Mechanism of angiopeptin (BIM 23014C) effect on the generation of allograft arteriosclerosis. *Transplantation* 1993;55:124-28.
- 261.Mennander A, Tilsaka S, Paavonen T, Halttunen J, Häyry P. Chronic rejection of rat aortic allograft. II. Administration of cyclosporin induces accelerated allograft arteriosclerosis. *Transplant Int* 1991;4:173-9.
- 262.Mennander A, Tikkanen MJ, Raisanen Sokolowski A, Paavonen T, Ustinov J, Häyry P. Chronic rejection in rat aortic allografts .IV. Effect of hypercholesterolemia in allograft arteriosclerosis. *J Heart Lung Transplant* 1993;12:123-31.
- 263.Mennander A, Tilsaka S, Halttunen J, Yimaz S, Paavonen T, Häyry P. Chronic rejection in rat aortic allografts. An experimental model for transplant atherosclerosis. *Arterioscler Thromb* 1991;11:671-80.
- 264.Merigan TC, Renlund DG, Keay S, Bristow MR, Starnes V, O'Connell JB et al. A controlled trial of ganciclovir to prevent cytomegalovirus disease after heart transplantation. *New Engl J Med* 1992;326:182-86.
- 265.Metlay JP, Pure E, Steinmann RM. Distinct features of dendritic cells and anti-Ig activated B cells as stimulators of the primary mixed leukocyte reaction. *J Exp Med* 1989;169:239.
- 266.Miano JM, Tota RR, Vlasic N, Danishesky KJ, Stemmerman MB. Early proto-oncogene expression in rat aortic smooth muscle cells following endothelial removal. *AM J Pathol* 1990;137:761-65.

267. Miller L, Kobashigawa J, Valentine H, Ventura H, Hauptmann P, O'Donnel J et al. The impact of cyclosporine dose and level on the development and progression of allograft coronary disease. *J Heart Lung Transplant* 1995;14:227-34.
268. Mooradian DL, Fernandes B, Digilio CA, Lester BR. Angiopeptin (BIM23014C) Inhibits vascular smooth muscle cell migration in vitro through a G-protein-mediated pathway and is associated with inhibition of adenylyl cyclase and cyclic AMP accumulation. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;25:611-18.
269. Morris RE, Meiser BM. Identification of a new pharmacological action for an old compound. *Med Sci Res* 1989;17:609-10.
270. Mosmann TR, Coffman RL. *Annu Rev Immunol* 1989;7:145-173.
271. Motomura M, Imakita M, Yutani C et al. Histologic modification by cryopreservation in rat aortic allografts. *Ann Thorac Surg* 1995;60:168-71.
272. Motomura M, Matsuda T, Oka T. Suppression of myointimal hyperplasia (II): Pharmacological approach using angiopeptin. *J Jpn Angiol* 1994;34:87-93.
273. Motomura N, Foegh ML. Angiopeptin-an immunological review. *Transplant Immunology* 1996;4:99-104.
274. Motomura N, Saito S, Matsuda T, Foegh ML. Effect of locally and systemically administered angiopeptin on growth factor expression in syngeneic deendothelialized heterotopic aorta grafts in the rat. *Transplant Proc* 1997;29(6):2563-4.
275. Mourad G, Vela C, Ribstein J, Momran A. Long-term improvement in renal function after cyclosporine reduction in renal transplant recipients with histologically proven chronic cyclosporine nephropathy. *Transplantation* 1998;65:661-7.
276. Müller M et al. Does prophylactic Ganciclovir therapy after heart transplantation decrease CMV-infection properly. 23rd Annual Meeting of the International Society of Heart and Lung Transplantation, Vienna, 9th-12th of April. In press.
277. Müller M, Meiser BM, Groetzner J, Kaczmarek I, Schuster F, Landwehr P, Überfuhr P, Reichart B. Sirolimus in combination with Tacrolimus for primary immunosuppression after orthotopic heart transplantation. Is it worth the effort? Oral presentation at ISHLT 25th Annual Meeting and Scientific Sessions, April 6-9, 2005, Philadelphia, USA. In press.
278. Müller M, Meiser BM, Groetzner J, Kaczmarek I, Reisch F, Schuster F, Landwehr P, Überfuhr P, Reichart B. Sirolimus in combination with Tacrolimus for primary immunosuppression after heart transplantation Oral presentation during ISHLT 24th Annual Meeting and Scientific Sessions, April 21-24, 2004, San Francisco.
279. Mullins PA, Chauhan A, Sharples L, Cary NR, Large SR, Wallwork J, Schofield PM. Impairment of coronary flow reserve in orthotopic cardiac transplant recipients with minor coronary occlusive disease. *Br Heart J* 1992;68:266-271.
280. Myers BD, Ross J, Newton L, Luetscher J, Perlroth M. Cyclosporine-associated chronic nephropathy. *New Engl J Med* 1984;311:699-705.
281. Nakamura H, Koike T, Himura K, Sato T, Tomioka H, Yoshida S. Identification of lymphoid cell lines bearing receptors for somatostatin. *Immunology* 1987;62:655-58.
282. Nashan B et al. Randomised trial of basiliximab versus placebo for control of acute cellular rejection in renal allograft recipients. *Lancet* 1997;350:1193-98.
283. Nielsen LB, Nordestgaard BG, Stender S, Kjeldsen K. Aortic permeability to LDL as a predictor of aortic cholesterol accumulation in cholesterol-fed rabbits. *Arterioscler Thromb* 1992;12:1402-9.
284. Nitenberg A, Aptekar E, Benvenuti C, Benhaiem N, Tavolaro O, Loisance D, Cachera JP. Effects of time and previous acute rejection episodes on coronary vascular reserve in human heart transplant recipients. *J Am Coll Cardiol* 1992;20:1333-1338.

285. Nitenberg A, Benvenuti C, Aptekar E et al. Acetylcholine-induced constriction of angiographically normal coronary arteries is not time dependent in transplant recipients. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:151-8.
286. O'Neil GS et al. *Br Heart J* 1993;52:212.
287. Offizielle Homepage (www.eurotransplant.org) von Eurotransplant mit Sitz in Leyden, Holland.
288. Ogawa N, Koyama I, Shibata K, Omoto R. Hypercholesterolemia accelerates coronary artery disease after heart transplantation in a rabbit model. *Transplant Proc* 1994;26:2320-2.
289. Okada K, Nishida Y, Murakami H et al. Role of endothelin in the development of graft arteriosclerosis in rat cardiac allografts. *Circulation* 1998;97:2346-51.
290. Olivari MT, Homans DC, Wilson RF, Kubo SH, Ring WS. Coronary artery disease in cardiac transplant patients receiving triple-drug immunosuppressive therapy. *Circulation* 1989;80:111-5.
291. Orbaek H Andersen. Heart allograft vascular disease – an obliterative vascular disease in transplanted hearts. *Atherosclerosis* 1999;142:243-263.
292. Pahl E, Fricker FJ, Armitage J, Griffith PB, Taylor S, Uretsky BF, Beerman LB, Zuberbuhler JR. Coronary arteriosclerosis in pediatric heart transplant survivors: limitation of long-term survival. *J Pediatr* 1990;116:177-83.
293. Paniagua MJ et al. Preemptive and prophylactic gancyclovir therapy for cmv infection in heart transplant patients. *Transplant Proc* 1999;31:2528-2529.
294. Park JW, Merz M, Braun P. Regression of transplant coronary artery disease during chronic low-density lipoprotein-apheresis. *J Heart Lung Transplant* 1997;16:290-7.
295. Park JW, Vermeltfoort M, Braun P, May E, Merz M. Regression of transplant artery disease during chronic HELP therapy: a case study. *Atherosclerosis* 1995;115:1-8.
296. Paul LC, Davidoff A, Bendiktsson H. Cardiac allograft atherosclerosis in the rat. The effect of histocompatibility factors, cyclosporine, and an angiotensin-converting enzyme inhibitor. *Transplantation* 1994;57:1767-72.
297. Paul LC, Fellström B. Chronic vascular rejection of the heart and the kidney – have rational treatment options emerged? *Transplantation* 1992;53:1169-1179.
298. Pawlikowski M, Stepień H, Kunert-Radek J, Schally AV. Effect of somatostatin on the proliferation mouse spleen lymphocytes in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1985;129:52-55.
299. Payan DG, Goetzl EJ. Modulation of lymphocyte function by sensory neuropeptides. *J Immunol* 1985;135(suppl):738-86.
300. Pearl JM, Laks H, Drinkwater et al. Loss of endothelium-dependent vasodilatation and nitric oxide release after myocardial protection with university of wisconsin solution. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 107:257-64.
301. Peters GE. Distribution and Metabolism of exogenous somatostatin in the rat. *Regul Pept* 1982;3:361-69.
302. Pethig K, Hoffmann A, Heublein B, Haverich A. Genetic polymorphism of transforming growth factor- β (codon 25) and development of cardiac allograft vascular disease. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:52.
303. Pflugfelder PW, Huff M, Oskals R, Rudas L, Kostuk WJ. Cholesterol-lowering therapy after heart transplantation: a 12-month randomized trial. *J Heart Lung Transplant* 1995;14:613-22.
304. Pham SM, Kormos RL, Hattler BG et al. A prospective trial of tacrolimus (FK506) in clinical heart transplantation: intermediate-term results. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;11:764-72.

305. Pinto FJ, St. Goar FG, Gao SZ et al. Immediate and one-year safety of intracoronary ultrasonic imaging: evaluation with serial quantitative angiography. *Circulation* 1993;88:1709-14.
306. Plissonier D, Amichot G, Lecagneux J, Duriez M, Gentric D, Michel JB. Additive and synergistic effects of a low-molecular-weight, heparin-like molecule and low doses of cyclosporine in preventing arterial graft rejection in rats. *Arterioscler Thromb* 1993;13:112-9.
307. Plissonnier D, Levy BI, Salzman JL, Nochy D, Watelet J, Michel JB. Allograft-induced arterial wall injury and response in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Arterioscler Thromb* 1991;11:1690-9.
308. Pollman MJ, Yamada T, Horiuchi M, Gibbons GH. Vasoactive substances regulate vascular smooth muscle cells apoptosis. *Circ Res* 1996;79:748-756.
309. Powell JS, Clozel JP, Müller RKM, Kuhn H, Hefti F, Hosang M, Baumgartner HR. Inhibitors of angiotensin-converting enzyme prevent myointimal proliferation after vascular injury. *Science* 1989;186-188.
310. Pucci AM, Forbes RDC, Billingham MF. Pathologic features in long-term cardiac allograft. *J Heart Lung Transplant* 1990;9:339-345.
311. Rabinovitch M, Molossi S, Clausel N. Cytokine-mediated fibronectin production and transendothelial migration of cardiac allograft disease: efficacy of novel therapeutic approaches. *J Heart Lung Transplant* 1995;14:116-123.
312. Radovanocevic B et al. Risk factors for development of accelerated coronary artery disease in cardiac transplant recipients. *Eur J Cardiothorac Surg* 1990;4:309-312.
313. Radovanocevic B, Pointdexter S, Birovljev S, Velebit V, McAllister HA, Duncan JM, et al. Risk factors for the development of accelerated coronary artery disease in cardiac transplant recipients. *Eur J Cardiothorac Surg* 1990;4:309-12.
314. Räisänen-Sokolowski A, Tilly Kiesi M, Ustinov J, Mennander A, Paavonen T, Tikkanen MJ, Hayry P. Hyperlipidemia accelerates allograft arteriosclerosis (chronic rejection) in the rat. *Arterioscler Thromb* 1994;14:2032-42.
315. Räisänen-Sokolowski A, Glysing-Jensen T, Mottram PL, Russel ME. Sustained anti-CD4/CD8 treatment blocks inflammatory activation and intimal thickening in mouse heart allografts. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1997;17:2115-22.
316. Raynor K, Murphy W, Coy D et al. Cloned somatostatin receptors: identification of subtype selective peptides and demonstration of high affinity binding of linear peptides. *Mol Pharmacol* 1993;43:838-44.
317. Reichart B, Meiser B, Vigano M, Rinaldi M, Martinelli M, Yacoub M, Banner NR, Gandjbakhch I, Dorent R, Hetzer R, Hummel M. European multicenter tacrolimus (FK506) heart pilot study: one-year results-European tacrolimus multicenter heart study group. *J Heart Lung Transplant* 1998;17:775-81.
318. Reichenspurner H, Russ C, Meiser B M et al. University of Wisconsin solution for myocardial protection in heart transplantation - a comparison with HTK. *Transplant Proc* 1993;25:3042-3.
319. Reisine T, Bell G. Molecular biology of somatostatin receptors. *Endocr Rev* 1995;16:427-42.
320. Reisine T, Guild S. Pertussin blocks SRIF inhibition of calcium mobilisation and desensitizes SRIF receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1985;235:551-57.
321. Reisine T, Zhang Y, Sekura R. Pertussis toxin treatment blocks the inhibition of somatostatin and increases the forskolin stimulation of cAMP accumulation and ACTH secretion from mouse anterior pituitary tumor cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1985;232:275-82.

- 322.Rickenbacher PR, Kemna MS, Pinto FJ, Hunt SA, Alderman EL, Schroeder JS, Stinson EB, Popp RL, Chen I, Reaven G, Valentine HA. Coronary arterial thickening in transplanted heart. An in vivo intracoronary ultrasound study of immunologic and metabolic risk factors. *Transplantation* 1996;61:46-53.
- 323.Rickenbacher PR, Pinto FJ, Chenzbraun A, Botas J, Lewis NP, Alderman EL, Valentine HA, Hunt SA, Schroeder JS, Popp RL et al. Incidence and severity of transplant coronary artery disease early and up to 15 years after transplantation as detected by intravascular ultrasound. *J Am Coll Cardiol* 1995;25(1):171-177.
- 324.Rickenbacher PR, Pinto FJ, Lewis NP, Hunt SA, Alderman EL, Schroeder JS, Stinson EB, Briwn BW, Valentine HA. Prognostic importance of intimal thickness as measured by intracoronary ultrasound after cardiac transplantation. *Circulation* 1995;92:3445-3452.
- 325.Rieber J, Klauss V, König A, Henneke KH, Spes C, Regar E, Werner F, Meiser B, Reichart B, Theisen K, Mudra H. Effects of tacrolimus and cyclosporine on the coronary microcirculation after heart transplantation: a prospective study with serial intracoronary flow measurements. *Transplant Proc* 1998;30:1098-1099.
- 326.Rose EA, Pepino P, Barr ML. Relationship of HLA antibodies and graft atherosclerosis in human cardiac allograft recipients. *J Heart Lung Transplant* 1992; 11:120-3.
- 327.Rose ML. Role of antibody and indirect antigen presentation in transplant-associated coronary artery vasculopathy. *J Heart Lung Transplant* 1996;15:342-49.
- 328.Ross R. *Nature (London)* 1993;362:801-809.
- 329.Rowe SK, Kleiman NS, Cocanougher B. Effects of intracoronary acetylcholine infusion early versus late after heart transplantation. *Transplant Proc* 1991;23:1193-7.
- 330.Rudas L, Pflugfelder PW, McKenzie FN, Menkis AH, Novick RJ, Kostuk WJ. Serial evaluation of lipid profiles and risk factors for the development of hyperlipidemia after cardiac transplantation [see comments]. *Am J Cardiol* 1990;66:1135-38.
- 331.Ruiz-Torres P, Lucio FJ, Gonzales-Rubio M, Rodriguez-Puyol M, Rodriguez-Puyol D. A dual effect of somatostatin on the proliferation of cultured rat mesangial cells. *Biochem Biophys Res Comm* 1993;195:1057-62.
- 332.Russel ME, Hancock WH, Wallace AF, Glysing-Jensen T, Willet TA, Sayegh MH. Chronic cardiac rejection in the Lew to F344 rat model. *J Clin Invest* 1996;97:833-8.
- 333.Russel ME, Wallace AF, Wyner LR, Newell JB, Karnowsky MJ. Upregulation and modulation of inducible nitric oxide synthase in rat cardiac allografts with chronic rejection and transplant arteriosclerosis. *Circulation* 1995;92:457-464.
- 334.Russell ME. Cardiac allograft vasculopathy: from mice to men. Changing concepts for the coronary circulation –perspectives beyond the usual- International symposium, June 10-12,1999, Munich. Key lecture.
- 335.Russell PS, Chase CM, Colvin RB. Alloantibody- and T cell-mediated immunity in the pathogenesis of transplant arteriosclerosis. *Transplantation* 1997;64:1531-1536.
- 336.Scheidt von W, Böhm M, Schneider B. Cholinergic baroreflex vasodilatation: defect in heart transplant recipients due to denervation of the ventricular baroreceptor. *Am J Cardiol* 1992;69:247-52.
- 337.Scheidt von W, Erdmann E. Dilated angiopathy: a specific subtype of allograft coronary artery disease. *J Heart Lung Transplant* 1991;10:698-703.
- 338.Scheidt von W, Koglin J, Weis M, Gross T, Meiser BM, Überfuhr P. Epicardial and microvascular manifestations of transplant vasculopathy: two distinct entities. *J Heart Lung Transplant* 1997;16:85(abstract).
- 339.Scheidt von W, Meiser BM, Gross T et al. Angiotensin II inhibits coronary intimal proliferation after human cardiac transplantation. *Eur Heart J* 1995;16 (abstr suppl):274.
- 340.Scheidt von W, Neudert J, Erdmann E. Contractility of the transplanted, denervated human heart. *Am Heart J* 1991;121:1480-9.

- 341.Scheidt von W, Überfuhr P, Reichart B, Steinbeck G. The role of PTCA in the management of focal critical lesions in transplant coronary artery disease. *Transplant Proc* 1995;3:1936-8.
- 342.Scheidt von W, Ziegler U, Kemkes BM, Erdmann E. Heart transplantation: hemodynamics over a five-year period. *J Heart Lung Transplant* 1991;10:342-350.
- 343.Scheidt von W, Ziegler U, Kemkes BM. Long-term myocardial function after heart transplantation. *Thorac Cardiovasc Surg* 1993;41:156-62.
- 344.Scheidt von W. Herztransplantation. In: Erdmann R, Riecker G, Hrsg. *Klinische Kardiologie*, 4. Aufl. Berlin-Heidelberg-New York:Springer,1996:1060-90.
- 345.Schmidt D, Meiser BM, Pfeiffer M, Schirmer J, Reichenspurner H, Paulus D, Seidel D, Reichart B. MPA-dose adjustment based on through levels-high and low dose pharmacokinetics in heart transplanted patients. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:46.
- 346.Schmitz Rixen T, Megerman J, Colvin RB, Williams AM, Abbott WM. Immunosuppressive treatment of aortic allografts. *J Vasc Surg* 1988;7:82-92.
- 347.Schroeder JS, Gao SZ, Alderman EL. A preliminary study of Diltiazem in the prevention of coronary artery disease in heart transplant recipients. *N Engl J Med* 1993;328:164-70.
- 348.Schroeder JS, Gao SZ. Calcium blockers and atherosclerosis: lessons from the Stanford Transplant Coronary Artery Disease/ Diltiazem Trial. *Can J cardiol* 1995;11:10-5.
- 349.Schütz E, Gummert J, Mohr FW, Armstrong VW, Oellerich M. Azathioprine myelotoxicity related to elevated 6-thioguanine nucleotides in heart transplantation. *Transplant Proc* 1995;27:1298-1300.
- 350.Schwenke DC, Zilvermit DB. Enhanced accumulation and turnover of esterified cholesterol in injured rabbit aorta. *Arteriosclerosis* 1987;7:367-77.
- 351.Scicchitano R, Dazin P, Bienenstock J, Payan DG, Stanis AM. Distribution of somatostatin receptors on murine spleen and peyer's patch T and B lymphocytes. *Brain Behav Immun* 1987;1:173-84.
- 352.Seiler C, Hess OM, Buechi M, Suter TM, Krayenbuehl HP. Influence of serum cholesterol and other coronary risk factors on vasomotion of angiographically normal coronary arteries. *Circulation* 1993;88:2139-2148.
- 353.Seir E, Modali R, Huang ES, Leon MB, Shawl F, Finkel T, Epstein SE. Potential role of human cytomegalovirus and p52 interaction in coronary restenosis. *Science* 1994;165:391-394.
- 354.Sharples LD et al. Diagnostic accuracy of coronary angiography and risk factors for post-heart-transplant cardiac allograft vasculopathy. *Transplantation* 2003;76(4):679-82.
- 355.Sharples LD, Caine N, Mullins P, Scott JP, Solis E, English TA et al. Risk factor analysis for the major hazards following heart transplantation – rejection, infection, and coronary occlusive disease. *Transplantation* 1991;52:244-52.
- 356.Shears LL, Kawaharada N, Tzeng E et al. Inducible nitric oxide synthase suppresses the development of allograft arteriosclerosis. *J Clin Invest* 1997;100:2035-42.
- 357.Shi C, Lee WS, He Q, Zhang D, Fletcher DL, Newell JB, Haber E. Immunologic basis of transplant-associated arteriosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:4051-4056.
- 358.Smart FW, Ballantyne CM, Cocanougher B, Farmer JA, Sekela Me, Noon GP, Young JB. Insensitivity of noninvasive tests to detect artery vasculopathy after heart transplantation. *Am J Cardiol* 1991;67:243-247.
- 359.Smith JA, Ribakove GH, Hunt SA et al. Heart retransplantation: the 25-year experience at a single institution. *J Heart Lung Transplant* 1995;14:832-39.
- 360.Smith JD, Pomerance A, Burke M, Yacoub M, Rose ML. Effect of HLA matching on graft function and long-term survival after cardiac transplantation: results of a large single center study. *J Heart Lung transplant* 1995;14(part 2):40(abstract).

361. Spes CH, Angermann CE. Stress echocardiography. Changing concepts for the coronary circulatory perspectives beyond the usual-International symposium, June 10-12, 1999, Munich. Abstract.
362. Spes CH, Mudra H, Schnaak SD et al. Noninvasive Screening for cardiac allograft vasculopathy by serial dobutamine stress echocardiography in comparison with intravascular ultrasound. *Circulation* 1995;92:1-88(abstract).
363. Sreedharam SP, Kodama KT, Peterson KE, Goetzl EJ. Distinct subsets of somatostatin receptors on cultured human lymphocytes. *J Biol Chem* 1998;264:949-57.
364. Stamler JS, Vaughan DE, Rudd MA, Mudge GH, Kirshenbaum J, Young P et al. Frequency of hypercholesterolemia after cardiac transplantation. *Am J Cardiol* 1988;62:1268-72.
365. Stanisiz SM, Befus DA, Bienestock J. Differential effects of vasoactive intestinal peptide, substance P and somatostatin on immunoglobulin synthesis and proliferation by lymphocytes from Peyer's patches, mesenteric lymph nodes and spleen. *J Immunol* 1986;136:152-56.
366. Stapleton DD, Mehra MR, Dumas D et al. Lipid-lowering therapy and long-term survival in heart transplantation. *Am J Cardiol* 1997;80:805-5.
367. Stemme S, Hansson GK. Immune mechanisms in atherogenesis. *Ann Med* 1994;26:141-6.
368. Stempfle HU, Werner C, Ehtler S, Assum T, Meiser B, Angermann CE, Theisen K, Gärtner R. Rapid trabecular bone loss after cardiac transplantation using FK506 (tacrolimus)-based immunosuppression. *Transplant Proc* 1998;30:1132-1133.
369. Stevenson LW, Steimle AE, Fonarow G. Improvement in exercise capacity of candidates awaiting heart transplantation. *J Am Coll Cardiol* 1995;25:163-70.
370. Stevenson LW. Selection and management of candidates for heart transplantation. *Cardiology* 1996;11:166-73.
371. Stewart KC et al. A comparative analysis of basiliximab (Simulect) antithymocyte globulin (Atgam) for induction immunosuppression in clinical lung transplantation. *J Lung Heart Transplant* 2002;21:67.
372. Stoltenberg RL, Geraghty J, Steele DM, Kennedy E, Hullett DA, Sollinger HW. Inhibition of intimal hyperplasia in rat aortic allografts with cyclosporine. *Transplantation* 1995;60:993-8.
373. Stovin PGI, Sharples L, Hutter JA, Wallwork J, English TAH. Some prognostic factors for the development of transplant-related coronary artery disease in human cardiac allografts. *J Heart Lung Transplant* 1991;10:38-44.
374. Stroes ES, Lüscher TF, de Groot FG et al. Cyclosporine A increases nitric oxide activity in vivo. *Circulation* 1997;99:570-75.
375. Studienprotokoll: Double blind controlled study on the effect of BIM 23014C (Angiopeptin) on transplant atherosclerosis after heart transplantation. Henri Beaufour Institute USA, Inc.
376. Suthanthiran M, Morris RE, Strom TB. Immunosuppressants: cellular and molecular mechanism of action. *Am J Kidney Dis* 1996;28:159-72.
377. Szabo G, Fazekas L, Bährle S, MacDonald D, Vahl CF, Hagl S. Effects of endothelin a and b receptor antagonists on myocardial and endothelial injury during reperfusion by after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:54.
378. Szabo M, Mitchler RE, Yang Y, Aji W, Roy D, Athan E, Sciacca RR, Minanov OP, Cannon P. Apoptosis of cardiac myocytes during cardiac allograft rejection: relation to induction of nitric oxide synthase. *Circulation* 1996;94:1665-1673.
379. Tai J, Tze WT, Murase N et al. *Metabolism* 1994;43:533.
380. Takai T, Li M, Sylvestre D, Clynes R, Ravetch JV. *Cell* 1994;76:519-529.

381. Takami H, Backer CL, Crawford SE, Pahl E, Mavroudis C. Diltiazem preserves direct vasodilator response but fails to suppress intimal proliferation in rat allograft artery disease. *J Heart Lung Transplant* 1996;15:67-77.
382. Tanaka H, Sukhova GK, Libby P. Interaction of the allogeneic state and hypercholesterolemia in arterial lesion formation in experimental cardiac allografts. *Arterioscler Thromb* 1994;14:734-45.
383. Tanaka M, Ito H, Adachi S et al. Hypoxia induces apoptosis with enhanced expression of Fas antigen messenger RNA in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Circ Res* 1994;75:426-33.
384. Tasumi H, Costa M, Schimerlik M, North R. Potassium conductance increased by noradrenaline, opioids, somatostatin and G-proteins. *J Neurosci* 1990;10:1675-82.
385. Taylor DO, Thompson JA, Hastillo A, Barnhart G, Rider S, Lower RR, Hess ML. Hyperlipidemia after clinic heart transplantation. *J Heart Transplant* 1989;8:209-13.
386. Taylor JE, Bogden AE, Moreau JP, Coy DH. In vitro and in vivo inhibition of small cell lung carcinoma (NCI-H69) growth by a somatostatin analogue. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;153(1):81-86.
387. Taylor JE, Moreau JP, Baptiste L, Moody TW. Octapeptides analogues of somatostatin inhibit the clonal growth and vasoactive intestinal peptide-stimulated cyclic AMP formation in human small cell lung cancer cells. *Peptides* 1991;12(4):839-843.
388. Tenkanen L, Pietila K, Manninen V, Manttari M. The triglyceride issue revisited: findings from the Helsinki Heart Study. *Arch Intern Med* 1994;154:2712-2720.
389. Teranishi K, Usui A, Maseki T, Watanabe T, Yasuura K, Imaizumi M. Dose and time relationship of cyclosporine on chronic graft vascular disease after transplantation in a rat cardiac isograft model. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:73. *19th Annual Meeting and Scientific Sessions, International Society for Heart and Lung Transplantation, April 21-24, 1999, San Francisco.*
390. Treasure CB, Alexander RW. Relevance of vascular biology to the ischemic syndromes coronary atherosclerosis. *Cardiovasc Drugs Ther* 1995;9:13-19.
391. Treasure CB, Vita JA, Ganz P, Ryan Tj Jr., Schoen FJ, Vekshtein VI, Yeung AC, Mudge GH, Alexander AW, Selwyn AP, Fish RD. Loss of coronary microvascular response to acetylcholine in cardiac transplant patients. *Circulation* 1992;86:1156-1164.
392. Tuzcu EM, De Franco AC, Goormastic M, Hobbs RE, Rincon G, Bott-Silverman C, McCarthy P, Sewart R, Mayer E, Nissen SE. Dichotomous pattern of coronary atherosclerosis 1 to 9 years after transplantation: insights from systematic intravascular ultrasound imaging. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:839-846.
393. Tuzcu EM, Hobbs RE, Rincon G, Bott-Silverman C, de Franco AC, Robinson K, McCarthy PM, Stewart RW, Guyer S, Nissen SE. Occult and frequent transmission atherosclerotic coronary disease with cardiac transplantation: insights from intravascular ultrasound. *Circulation* 1995;91:1706-1713.
394. Überfuhr P, Ziegler S, Schwaiblmair M et al. Functional significance of the sympathetic reinnervated orthotopically transplanted human heart. *J Heart Lung Transplant* 1997;16:88.abstract.
395. Uretsky BF. Physiology of the transplanted heart. In: Thompson ME, ed. *Cardiac transplantation*. Philadelphia: Davis, 1990:23-56.
396. Ustinov JA, Loginov RJ, Bruggeman CA, van der Meide PH, Häyry PJ, Lautenschlager IT. Cytomegalovirus induces class II expression in rat heart endothelial cells [see comments]. *J Heart Lung Transplant* 1993;12:644-51.
397. Valentine H, Hunt S, Gamberg P, Miller J, Luikart H. Impact of cyclosporine dose on long-term outcome after heart transplantation. *Transplant Proc* 1994;26:2710-2712.

398. Valantine HA et al. Impact of prophylactic immediate posttransplant ganciclovir on development of transplant atherosclerosis. *Circulation* 1999;100:61-66.
399. Valantine HA, Rickenbacher P, Kemm M. Metabolic abnormalities characteristic of syndrom X and microvascular coronary artery disease are associated with cardiac allograft vascular disease. *Circulation*. In press.
400. Valantine HA, Schroeder JS. HMG-CoA reductase inhibitors reduce transplant coronary artery disease and mortality. Evidence for antigen-independent mechanisms. *Circulation* 1997;96:1370-3.
401. Valantine HA. Role of lipids in allograft vascular disease: a multicenter study of intimal thickening detected by intravascular ultrasound. *J Heart Lung Transplant* 1995;14:234-237.
402. Vanhecke J, Van Cleemput J, Van Lierde J, Deenen W, De Geest H. Safety and efficacy of low dose simvastatin in cardiac transplant recipients treated with cyclosporine. *Transplantation* 1994;58:42-5.
403. Vargas R, Wroblewska B, rego A, et al. Angiopeptin inhibits thymidine incorporation by explants of porcine coronary arteries. *J Cardiovasc Pharmacol (United States)* 1997;29(2):278-83.
404. Veentura HO, Malik FS, Mehra MR, Stapleton DD, Smart FW. Mechanism of Hypertension in cardiac transplantation and the role of cyclosporine. *Curr Opin Cardiol* 1997;12:375-81.
405. Vekshtein VI, Alexander RW, Yeung AC, Plappert T, St. John Sutton MG, Ganz P. Coronary atherosclerosis is associated with left ventricular dysfunction and dilation in aortic stenosis. *Circulation* 1990;82:2068-2074.
406. Wahlers T, Mügge A, Oppelt P et al. Coronary vasculopathy following cardiac transplantation and cyclosporine immunosuppression: preventive treatment with angiopeptin, a somatostatin analog. *Transplant Proc* 1994;26:2741-42.
407. Wahlers T, Mügge A, Oppelt P et al. Preventive treatment of coronary vasculopathy in heart transplantation by inhibition of smooth muscle cell proliferation with angiopeptin. *J Heart Lung Transplant* 1995;14:143-50.
408. Walter DH, Haendeler J, Galle J et al. Cyclosporine A inhibits apoptosis of human endothelial cells by preventing release of cytochrome C from mitochondria. *Circulation* 1998; 98:1153-57.
409. Wanders A, Akyürek ML, Waltenberg J, Stafberg C, Larsson E, Zhiping R, Funa K, Fellström B. The impact of ischemia time on chronic vascular rejection in the rat – effects of angiopeptin. *Transplant Proc* 1993;21:2098-2099.
410. Wanders A, Akyürek ML, Waltenberger J, Ren ZP, Stafberg C, Funa K, Larsson E, Fellstrom B. Ischemia-induced transplant arteriosclerosis in the rat. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:145-55.
411. Weis M, Gross T, Meiser BM et al. Koronare Endothelfunktion im Frühstadium nach Herztransplantation: Vergleich zwischen Tacrolimus und Cyclosporin-Immunsuppression. *Z Kardiol* 1997;86:Suppl:230(abstract).
412. Weis M, Hartmann A, Marzilli N, Olbrich HG, Burger W, Satter P. Variations of segmental endothelium dependent and endothelium independent vasomotor tone in the long term follow up after cardiac transplantation (qualitative changes in endothelial function). *J Am Coll Cardiol* 1995;2:430A(abstract).
413. Weis M, Hartmann A, Olbrich HG, Schacherer C, Wiemer J, Hör G, Zeiher AM. Prognostic significance of coronary flow reserve on left ventricular ejection fraction in heart transplant recipients. *Circulation* 1995;92(suppl I):I-245(abstract).
414. Weis M, Pehlivanli S, Meiser BM, Thiery J, von Scheidt W. The role of lipids and fibrinogen in coronary vasomotor dysfunction after cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:50.

415. Weis M, Scheidt von W. Cardiac allograft vasculopathy: a review. *Circulation* 1997;96(6):2069-77.
416. Weis M, Scheidt von W. Coronary artery disease in the transplanted heart. *Ann Rev Med* 2000;51:81-100.
417. Weis M, Widhirt SM, Schulze C et al. Impact of myocardial endothelin expression on functional and morphological coronary alteration during follow-up in cardiac transplant recipients. *J Am Coll Cardiol* 1999;33(2):186A(Abstract).
418. Weis M, Wildhirt SM, Schulze C et al. Impact of immunosuppression on coronary endothelial function early after transplantation. *Transplant Proc* 1998;30:871-72.
419. Weis M. Coronary endothelial dysfunction in cardiac allografts. Causes, course, consequences. Changing concepts for the coronary circulation-perspectives beyond the usual-International symposium, June 10-12, 1999, Munich. Abstract.
420. Wenke K, Meiser BM, Thiery Y et al. Prävention der Transplantatvaskulopathie nach Herztransplantation durch Simvastatin. *Transplantationsmedizin* 1996;XX:Suppl:29.
421. Wenke K, Meiser BM, Thiery J et al. Simvastatin reduces graft vessel disease and mortality after heart transplantation: a four-year randomized trial. *Circulation* 1997;96:1370-73.
422. Wennmalin A. Endothelial nitric oxide and cardiovascular disease. *J Intern Med* 1994;235:317-327.
423. White WL, Zhang YL, Shelby J, Trautman MS, Perkins SL, Hammond EH, Shaddy RE. Myocardial apoptosis in a heterotopic murine heart transplantation model of chronic rejection and graft vasculopathy. *J Heart Lung Transplant* 1997;16:250-5.
424. Wick G, Schett G, Amberger A, Kleindienst R, Xu Q. Is atherosclerosis an immunologically mediated disease? *Immunol Today* 1995;16:27-33.
425. Winston DJ et al. Randomised comparison of ganciclovir and high dose aciclovir for long-term cmv prophylaxis in liver transplant recipients. *Lancet* 1995;346:69-74.
426. Winters GL, Kendall TJ, Radio SJ, Wilson JE, Costanzo Nordin MR, Switzer BL, Remmenga JA, McManbus BM. Posttransplant obesity and hyperlipidemia: major predictors of severity of coronary arteriopathy in failed human heart allografts. *J Heart Lung Transplant* 1990;9:364-71.
427. Wreghitt TG et al. Intravenous ganciclovir prophylaxis for cytomegalovirus in heart, heart-lung and lung transplant recipients. *Transplant Int* 1999;12:254-260.
428. Wu GD, Cramer DV, Chapman FA et al. FK506 inhibits the development of transplant atherosclerosis. *Transplant Proc* 1991;23:3272-4.
429. Wyatt MA, Lauder H, Sellers LA, Feniuk W, Humphrey PPA. Functional effects of somatostatin on cellular proliferation of HGT-1 cells. *Br J Pharmacol* 1997;122:221P.
430. Xiao-shi et al. Poster am Kongress „Transplant 2001“ der American Society of Transplant Surgeons (ASTS) und der American Society of Transplantation (AST).
431. Yamada T, Creutzfeldt W, Beglinger C, Chiba T. The effect of somatostatin on cellular proliferation. *Gastroenterol Int* 1994;7:13-23.
432. Yatscoff RW. Pharmacokinetics of rapamycin. *Transplant Proc* 1996;28:970-73.
433. Yeung AC, Anderson T, Meredith I, Uehata A, Ryan TJ, Selwyn AP, Mudge GH, Ganz P. Endothelial dysfunction in the development and detection of transplant coronary artery disease. *J Heart Lung Transplant* 1992;11:69-73.
434. Yeung AC, Davis SF, Hauptmann PJ, Kobashigawa JA, Miller LW, Valentine HA, Ventura HO, Wiedermann J, Wilensky R. Incidence and progression of transplant coronary artery disease over 1 year results of a multicenter trial with use of intravascular ultrasound. *J Heart Lung Transplant* 1995;14:215-220.
435. Yilmaz S, Paavonen T, Häyry P. Chronic rejection in rat renal allografts. II. The impact of prolonged ischemia time on transplant histology. *Transplantation* 1992;53:823-7.

436. Yoshimura N, Oka T. FK506, a new immunosuppressive agent: A review. *J Immunol Immunopharmacol* 1990;10:32-6.
437. Young JB, Winters WL, Bourge R. Task force 4: Function of the heart transplant recipient. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:31-41.

Curriculum Vitae

- Name: Markus Müller
- Wohnort: Neuhäuserstr. 27, 86154 Augsburg
- Geburtstag und –ort: 29.07.1973 in Vilseck, Landkreis Amberg-Sulzbach
- Familienstand: ledig
- Nationalität: deutsch
- Schulbildung:
 - 09/80-07/84 Grundschule St. Wallburg/ Eichstätt
 - 09/84-07/93 Willibald-Gymnasium Eichstätt
 - 09.07.93 Abitur
- Zivildienst:
 - 01.09.93-30.11.94 Behindertenbetreuung/ BRK Eichstätt
- Studium:
 - 10/94-09/96 Vorklinisches Studium/ LMU München
 - 10/96-03/01 Klinisches Studium/ LMU München
 - 24.04.2000 bis 18.06.2000 PJ Gefäßchirurgische Abteilung, Klinikum Großhadern
 - 19.06.2000 bis 13.08.2000 PJ Herzchirurgische Klinik, Klinikum Großhadern
 - 14.08.2000 bis 03.12.2000 PJ Anästhesie, Klinikum Großhadern
 - 04.12.2000 bis 25.03.2001 PJ Innere Medizin, Kardiologische Klinik, Universitätsklinikum Bern
 - April 2003 Ärztliche Prüfung
- Studienbegleitende Tätigkeiten
 - Famulaturen:
 - 04/97: Int. Gemeinschaftspraxis Dres. Kaufmann/ Attenberger/ Overkamp in Eichstätt
 - 10/97: Kardiologische Klinik, Klinikum Ingolstadt
 - 04/98: Chirurgische Abteilung, Kreiskrankenhaus Eichstätt
 - 09/99: Herzchirurgische Klinik, Klinikum Großhadern
 - 01.08.1998-31.10.1999 Studentische Hilfskraft, Herzchirurgische Poliklinik, Klinikum Großhadern
- Promotion: Auswirkungen des Medikaments Angiopeptin auf die Transplantatvaskulopathie nach Herztransplantation bei Prof. B. Reichart
Herzchirurgische Klinik, Klinikum Großhadern

- Berufliche Laufbahn

01.07.2001 bis 31.12.2002

Arzt im Praktikum an der Herzchirurgischen
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität
München

01.01.2003

Approbation als Arzt

01.01.2003 bis 31.10.2004

Assistenzarzt an der Herzchirurgischen Klinik der
Ludwig-Maximilians-Universität München

01.11.2004 bis 31.07.2005

Assistenzarzt am Herzzentrum Schwaben, Klinik
für Herz- und Thoraxchirurgie, Zentralklinikum
Augsburg, Lehrkrankenhaus der Ludwig-
Maximilians-Universität München

ab 01.08.2005

Assistenzarzt am Herzzentrum Schwaben, Klinik
für Kardiologie, Zentralklinikum Augsburg,
Lehrkrankenhaus der Ludwig-Maximilians-
Universität München

Widmung und Danksagung

Ich widme meine Dissertation meinen Eltern Wilhelm und Erna Müller, meiner Schwester Annette sowie meiner Frau Renate, die mich mit Ihrer Liebe und Unterstützung begleitet haben.

Darüber hinaus bedanke ich mich für die unermüdliche Unterstützung von Prof. Bruno Reichart und Dr. Bruno Meiser, die mir mit Ihrer Erfahrung und einzigartigen Kompetenz zur Seite standen.

Markus Müller

Augsburg im Januar 2007