

Aus der Herzchirurgischen Klinik und Poliklinik der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Professor Dr. Christian M. Hagl

**DE NOVO CALCINEURIN-INHIBITOR-FREIE IMMUNSUPPRESSION  
BEI PATIENTEN NACH HERZTRANSPLANTATION**

**EINE KLINISCHE UNTERSUCHUNG ZUM VERGLEICH EINER SIROLIMUS-THERAPIE ZUR CALCINEURIN-INHIBITOR-BASIERTEN  
IMMUNSUPPRESSION NACH HERZTRANSPLANTATION.**

**Dissertation**

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

vorgelegt von  
Ricarda Isabel Reimann  
aus München

München 2014

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München**

Berichterstatter: PD Dr. med. Ingo Kaczmarek

Mitberichterstatter: PD Dr. med. Siglinde Kofler

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Jan-Michael Abicht

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 16.10.2014

*Gewidmet meinen Eltern  
in tiefster Dankbarkeit*

## Inhalt

Abkürzungen und Einheiten .....	6
1. Einleitung .....	7
1.1. Abstoßungsreaktionen .....	8
1.1.1. Hyperakute Abstoßungsreaktionen .....	8
1.1.2. Akute Abstoßung .....	9
1.1.3. Chronische Abstoßung .....	10
1.2. Immunsuppressive Therapie .....	12
1.2.1. Historie der immunsuppressiven Therapie .....	12
1.2.2. Azathioprin .....	14
1.2.3. Glukokortikoide .....	15
1.2.4. Mycophenolat Mofetil (MMF) .....	18
1.2.5. Tacrolimus .....	21
1.2.6. Sirolimus .....	23
1.3. Vorarbeiten .....	26
2. Fragestellung .....	26
2.1. Ziel der Arbeit: .....	26
3. Patienten und Methodik .....	27
3.1. Studiendesign .....	27
3.2. Ethikkommission .....	27
3.3. Patienten .....	27
3.4. Ein- und Ausschlusskriterien der Studie .....	27
3.5. Therapie .....	28

3.6.	Behandlungszeitraum und Follow-up: .....	30
3.7.	Statistik .....	32
4.1.	Demographie .....	33
4.2.	Studien medikation .....	33
4.3.	Überleben .....	33
4.4.	Abstoßungsreaktionen.....	34
4.5.	Transplantatvaskulopathie .....	35
4.6.	Pumpfunktion.....	35
4.7.	Komplikationen ohne Aussetzen der Studien Medikation:.....	36
4.8.	Komplikationen mit Aussetzen der Studien Medikation .....	36
4.9.	Nierenfunktion.....	37
4.10.	Lipid- und Glucosestoffwechsel .....	38
5.	Diskussion .....	39
5.1.	Überleben und Abstoßungsreaktionen .....	40
5.2.	Nebenwirkungsprofil .....	41
5.3.	Einschränkungen dieser Studie .....	45
5.4.	Fazit.....	45
6.	Zusammenfassung .....	46
7.	Literaturverzeichnis.....	48
8.	Danksagung.....	56
9.	Ehrenwörtliche Erklärung .....	57

## ABKÜRZUNGEN UND EINHEITEN

Abb.	Abbildung	K <sup>+</sup>	Kaliumionen
APC	Antigenpräsentierende Zelle	l	Liter
ATG	Antithymocyt-Globulin	MHC	Major Histocompatibility Complex
TVP	Transplantatvasculopathie	MMF	Mycophenolat-Mofetil
CMV	Cytomegalie-Virus-Infektion	N	Stickstoff
CNI	Calcineurin-Inhibitor	NFAT	nuclear factor of activated t-cells
CRP	complement regulatory proteins type 1	OKT3	Handelsname für Muronab-CD3
DNA	Desoxyribonukleinsäure	Tab.	Tabelle
et al.	„und andere“	TCR	T-Zell-Rezeptoren
g	Gramm	<b>Präfixe vor Einheiten</b>	
H <sup>+</sup>	Wasserstoffion	d	Dezi (10 <sup>-1</sup> )
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus	k	Kilo (10 <sup>3</sup> )
Ig	Immunglobulin	m	Milli (10 <sup>-3</sup> )
IL	Interleukin	n	Nano (10 <sup>-9</sup> )
ISHLT	International Society for Heart and Lung Transplantation	μ	Mikro (10 <sup>-6</sup> )

# 1. EINLEITUNG

Die Transplantationsmedizin ist für betroffene Patienten segensbringend. Die Organtransplantation ist oft die letzte Möglichkeit, Patienten im Finalstadium eines Organversagens zu helfen. Durch die Pioniererfolge von Barnard (1968) sowie Starzl (1968) und die Entwicklung einer ausreichenden Immunsuppression wurde die humane Herztransplantation etabliert (Barnard 1976).

Trotz Verbesserung der Immunsuppression sind die chronische Abstoßung und die spezifische Transplantatvaskulopathie die häufigsten Todesursachen in der Herztransplantation (Taylor 2006). Neben therapierefraktärer Transplantatabstoßung ist der Langzeiterfolg der Herztransplantation durch die Nebenwirkungen der Immunsuppression limitiert. Hierzu zählen insbesondere Nephrotoxizität, Neurotoxizität und Kanzerogenität.

Die Kombination und Dosierung der zur Verfügung stehenden immunsuppressiven Substanzen entscheidet daher über den langfristigen Erfolg jeder Transplantation. Dabei ist eine Individuelle Anpassung der Medikamente an die auftretenden Nebenwirkungen und die Immunreaktion jedes einzelnen Patienten notwendig. Oft muss in diesem Konflikt ein Kompromiss aus erwünschten und unerwünschten Wirkungen getroffen werden.

Einerseits konnte die Einführung des Calcineurin-Inhibitors Ciclosporin Anfang der Achtziger-Jahre Abstoßungsraten und Überlebenszeiten massiv verbessern und so den Durchbruch der Transplantationsmedizin ermöglichen. Andererseits bekamen schwerwiegende Nebenwirkungen eine wachsende Bedeutung für die Gesamtprognose und auch die Lebensqualität der Transplantierten.

Die Bemühungen der behandelnden Ärzte und Forschung konzentrierten sich bei immer längerer Lebenserwartung nach Herztransplantation auf die Verträglichkeit der immunsuppressiven Therapie. In einer prospektiven Studie konnten Groetzner et al. zeigen, dass ein komplettes Absetzen des Calcineurin-Inhibitors und eine Fortführung der Immunsuppression mit der Kombination aus MMF und Prednisolon die Nierenfunktion der Patienten signifikant verbessert, es aber während des einjährigen Follow-up bei einer hohen Anzahl von Patienten zu zellulärer Abstoßung oder der Aggravierung der vorbestehenden Transplantatvaskulopathie kam (Groetzner 2008).

Hoffnung war insbesondere mit der Markteinführung des Proliferationshemmers Sirolimus aufgekommen. Es schien damit ein Immunsuppressivum zu existieren, das die Calcineurin-Inhibitoren mit ihrem ausgeprägten Nebenwirkungsprofil ersetzen könne.

In der oben genannten Konversionsstudie wurden 33 niereninsuffiziente, herztransplantierte Patienten von einer Calcineurin-Inhibitor-basierten Immunsuppression auf die Kombination Sirolimus und MMF umgestellt. 29 Patienten vertrugen die neue Therapie gut. Die Nierenfunktion konnte signifikant verbessert werden (Groetzner 2008).

Im Folgenden soll zuerst auf den immunologischen Hintergrund der allogenen Organtransplantation eingegangen werden und die verschiedenen Abstoßungsreaktionen zusammengefasst werden. Anschließend werden die wichtigsten heutzutage zur Verfügung stehenden Medikamente zur Aufrechterhaltung einer immunsuppressiven Therapie beschrieben. Auf die Medikamente der Induktions- und Rescuetherapie wurde in dieser Arbeit verzichtet. Bei der Beschreibung der einzelnen Substanzen wurde insbesondere auf die nicht erwünschten Wirkungen dieser Medikamente eingegangen.

### 1.1. **ABSTOßUNGSREAKTIONEN**

Die Abstoßungsreaktionen nach allogener Herztransplantation können anhand ihres zeitlichen Auftretens in drei verschiedene Reaktionen unterteilt werden: Hyperakute Abstoßung, akute Abstoßung und chronische Abstoßung. Diese drei unterscheiden sich jedoch auch hinsichtlich der zugrundeliegenden immunologischen Abläufe.

#### **1.1.1. HYPERAKUTE ABSTOßUNGSREAKTIONEN**

Die hyperakute Abstoßung nach allogener Herztransplantation ist ein sehr seltenes, aber schwerwiegendes Ereignis, das mit einer Letalität von 70% einhergeht (Saito 2009). Es wurden verschiedene medikamentöse sowie operative Ansätze (Herzunterstützungspumpen) der Behandlung hyperakuter Abstoßungen beschrieben (Kaczmarek 2007, Kaczorowski 2013).

Um die Wahrscheinlichkeit einer hyperakuten Abstoßung zu reduzieren, wird vor der Transplantation ein virtuelles Crossmatch durchgeführt. Dabei werden die aus dem PRA-Screening bekannten Antikörper des Empfängers (panel reactive activity) auf Kompatibilität mit dem Organspender untersucht (Saito 2009). Das PRA Screening wird daher bereits im Vorfeld der Listung zur Transplantation durchgeführt.

#### **ZEITLICHER VERLAUF:**

Die hyperakute Abstoßung erfolgt innerhalb von wenigen Minuten, seltener auch wenigen Stunden nach Reperfusion des Transplantats. Hervorgerufen wird diese durch allospezifische HLA- oder blutgruppenspezifische AB0-Antikörper, die zur Zeit der Transplantation bereits vorhanden sind (zytotoxische Antikörper gegen AB0- oder HLA-Antigene des Transplantats (Weil 1981).

Nach der Aktivierung des Komplementsystems kommt es zu Ablagerung von Fibrin in den Gefäßen des Spenderorgans und folglich zu Verschlüssen; das Gewebe wird nekrotisch. Eine eingetretene hyperakute Abstoßung des Herzen kann normalerweise nicht rückgängig gemacht werden (Nwakanma 2007)

### **1.1.2. AKUTE ABSTOßUNG**

#### **AKUTE VASKULÄRE ABSTOßUNGSREAKTION**

Diese beginnt später als eine mögliche hyperakute Abstoßung. Hier findet eine Typ-II-Endothelzell-Aktivierung statt, bei der es zu zellulären Syntheseleistungen kommt. Es kommt zu Expression von Adhäsionsmolekülen, Zytokinen und prokoagulatorischen Molekülen und somit zur Thrombenbildung in Gefäßen (Walch 2014). Eine Infiltration und Aktivierung von Makrophagen (~ 75 %) und natürlichen Killerzellen (~ 20 %) kann anschließend festgestellt werden (Dresske 1997). Die Gerinnungskaskade wird durch die Produktion von Gewebefaktor weiter angetrieben.

Der direkte Zell-zu-Zell-Kontakt von natürlichen Killerzellen mit Endothelzellen fördert die Expression von E-Selektin und die Freisetzung von IL-8. Diese Abläufe führen zu dem charakteristischen Bild der vaskulären Abstoßung (Dresske 1997): Ischämie, Anschwellen des Endothels, massive Thrombenbildung und entzündliche Veränderungen.

#### **AKUTE ZELLULÄRE ABSTOßUNGSREAKTIONEN**

Charakterisiert ist die zelluläre Abstoßung durch T-Zell-vermittelte Vorgänge (Batts 1999). Antigenpräsentierende Zellen (APC), (dendritische Zellen, Makrophagen, B-Zellen, aktivierte T-Zellen, aktivierte Endothelzellen) besitzen auf ihrer Oberfläche MHC-Klasse-II-Moleküle, die Peptidantigene präsentieren (Lindenfeld 2004). Peptidantigene können über den T-Zell-Rezeptor-CD3-Komplex (auch: TCR-CD3-Komplex) der T-Lymphozyten, der mit dem Corezeptor (CD4) verbunden ist, erkannt und zusammen mit dem MHC-Molekül gebunden werden. Empfänger-APCs nehmen Fremdmoleküle des Transplantats auf, können jedoch auch aus dem Transplantat stammen (Lindenfeld 2004).

Optimal werden die T-Zellen durch ein costimulierendes Molekül aktiviert (z. B. CD28). Dieses bindet sich an B7-Moleküle der APCs und aktiviert die Calcium-Calmodulin-abhängige Serinphosphatase Calcineurin im Zytoplasma (Lindenfeld 2004). Durch Dephosphorylierung von inaktiven nuklearen Faktoren der aktivierten T-Zellen (NFAT) bewirkt Calcineurin die Translokation dieser Faktoren in den Zellkernen. Dies bewirkt die Transkription bestimmter Zytokine, wie

beispielsweise IL-2, die in der Aktivierung von T-Lymphozyten involviert sind. Es wurden bereits eine Vielzahl nukleäre Faktoren (NFAT1, NFAT2 und NFAT4) identifiziert, die an der Transkription von IL-2 aber auch IL-4 und CD40L beteiligt sind (Kapturczak 2004). IL-2 aktiviert den IL-Rezeptor an der Oberfläche der T-Zelle. Dadurch kommt es zur vollständigen Aktivierung und Proliferation genannter Zellen (Lindenfeld 2004). Diese T-Helferzellen können andere T-Helferzellen, zytotoxische Zellen, B-Zellen und natürliche Killerzellen aktivieren. Histologisch ist daher die Infiltration des Organs durch zytotoxische T-Lymphozyten prävalent.

Zur Herstellung der DNA im Zellzyklus benötigen die T-Lymphozyten die de novo Purin- und Pyrimidin-Synthese.

### ***ZEITLICHER VERLAUF:***

Die akute Abstoßung beginnt meist innerhalb von Tagen bis Wochen. Eine Abstoßung zwischen dem 2. und 5. Tag nach der Operation bezeichnet man auch als akzelerierte Abstoßung. Meist beruht sie auf der oben beschriebenen zellulären Abstoßung.

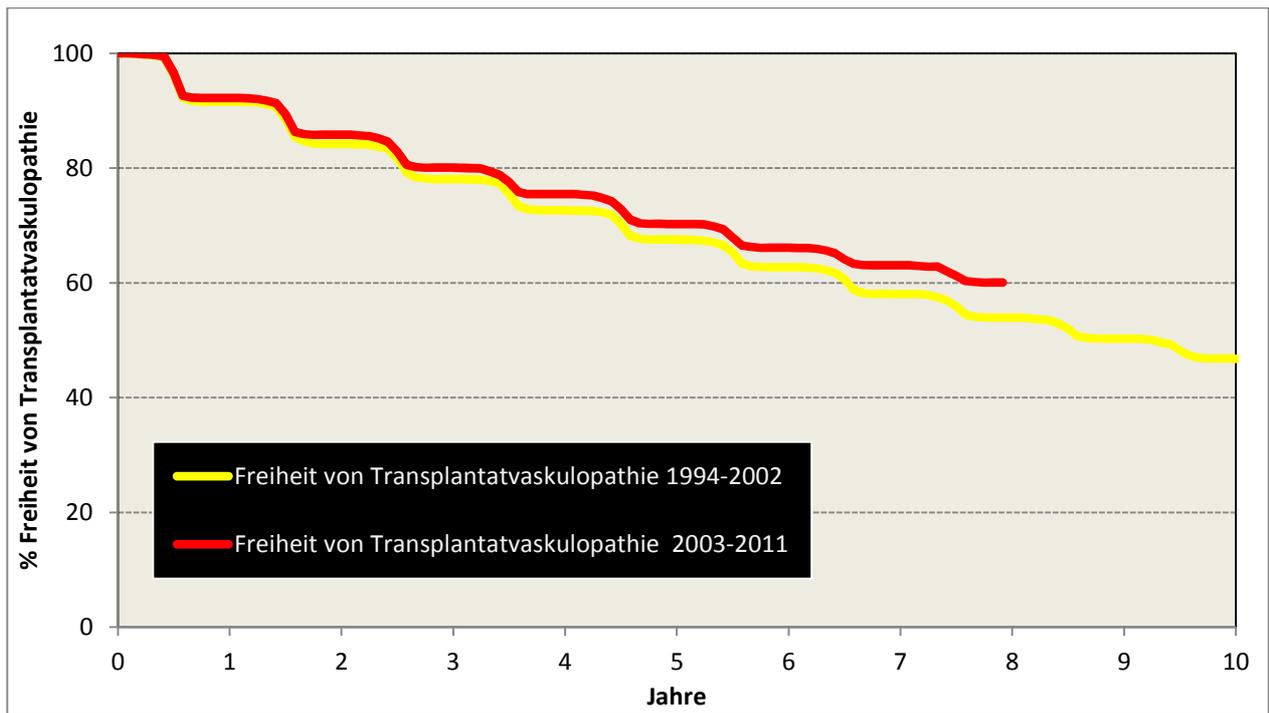
Eine akute Abstoßung kann meistens erfolgreich behandelt werden, etwa durch Glucocorticoide, Steigerung der Immunsuppressiva oder Antilymphozyten-Antikörper wie Basiliximab oder Daclizumab (Campara 2010).

### ***1.1.3. CHRONISCHE ABSTOßUNG***

Die chronische Abstoßung bezeichnet den langfristigen Funktionsverlust des Transplantates, der meist mit einer Fibrosierung des Organs einhergeht (Häyry et al.1992b). Diese chronische Abstoßung manifestiert sich in erster Linie in Form einer sogenannten Transplantatvaskulopathie (TVP), die durch eine Reihe nichtimmunologischer Risikofaktoren begünstigt wird und Monate bis Jahre nach der Transplantation auftritt (Schmauss 2008).

Feingeweblich liegt ihr eine Transplantatvaskulopathie zugrunde, d. h. irreversible Verengungen der Blutgefäße. CD4-T-Effektorzellen vom TH1-Typ wandern in die Gefäßwände ein und stimulieren dort Makrophagen und Endothelzellen (Suzuki J. 2010). Durch Migration und Proliferation von glatten Muskelzellen kommt es zur Bildung einer Neointima mit Verlegung der Gefäße (Häyry et al.1992a). In Herztransplantaten führt dies zu einer Stenose und sogar zum Verschluss der Gefäßlumina und zu Gewebsfibrosierungen. Histologisch sind meist wenig Entzündungszeichen nachzuweisen.

Als Folge der Gefäßverschlüsse manifestiert sich die TVP in Form von Myokardischämien und -Infarkten. Da bis auf etwa 10-30% der Patienten keine Reinnervation des Herzens stattfindet, fehlen meist die pektanginösen Beschwerden. Die rechtzeitige Diagnose der TVP ist daher sehr wichtig. In der Diagnostik haben nicht-invasive Methoden eine niedrige Sensitivität, lediglich die Dobutamin-Streßchokardiographie hat einen Stellenwert. Eine sichere Diagnose ist nur mittels invasiver Verfahren möglich. Goldstandard stellt dabei weiterhin die Koronarangiographie dar.



**Abbildung 1.1** : Internationale Vergleichswerte zur Häufigkeit bzw. Freiheit von Transplantatvaskulopathie (ISLHT 2013)

Als begünstigende Ursache werden eine Dyslipoproteinämie und eine gestörte Blutgerinnung diskutiert (Schmauss D 2008, Suzuki J, 2009). Als Risikofaktor für das Auftreten einer TVP konnte unter anderem eine Vorgeschichte mit humoralen Abstoßungsreaktionen identifiziert werden. (Michaels PJ, 2003).

Die Transplantatvaskulopathie (TVP) ist ein prognostisch ungünstiger Faktor Die Inzidenz liegt etwa bei 5-10% pro Jahr (Schmauss 2008). Diese Art der Abstoßungsreaktion ist schlecht zu behandeln. Die interventionelle Gefäßöffnung bringt oft nur einen kurzzeitigen Erfolg, im fortgeschrittenen Stadium muss daher meist eine erneute Transplantation durchgeführt werden. Die medikamentöse Therapie einer Hyperlipoproteinämie soll das Fortschreiten der Erkrankung verhindern. Alternativ ist auch die wesentlich aufwendigere Lipidapherese, ein Verfahren das dem Blut Gerinnungsfaktoren und Blutfette entzieht, möglich (Julius et al. 2000).

## **1.2. IMMUNSUPPRESSIVE THERAPIE**

### ***1.2.1. HISTORIE DER IMMUNSUPPRESSIVEN THERAPIE***

Anfang der Sechzigerjahre entstand das Konzept, tierische Immunsereen gegen humane Lymphozyten herzustellen, da die Bedeutung der langlebigen Lymphozyten bei immunologischen Reaktionen erkannt worden war. Schon 1899 war es Metschnikoff in Russland, der zum ersten Mal xenogenes poliklonales Antilymphocytenserum herstellte, jedoch ohne die Intention dieses als Immunsuppressivum einzusetzen (Abul 2005). Heute haben Immunsereen in Form von Antithymozyten Antiseren einen hohen Stellenwert und werden zur Induktionstherapie oder zur Behandlung akuter Abstoßungsreaktionen eingesetzt.

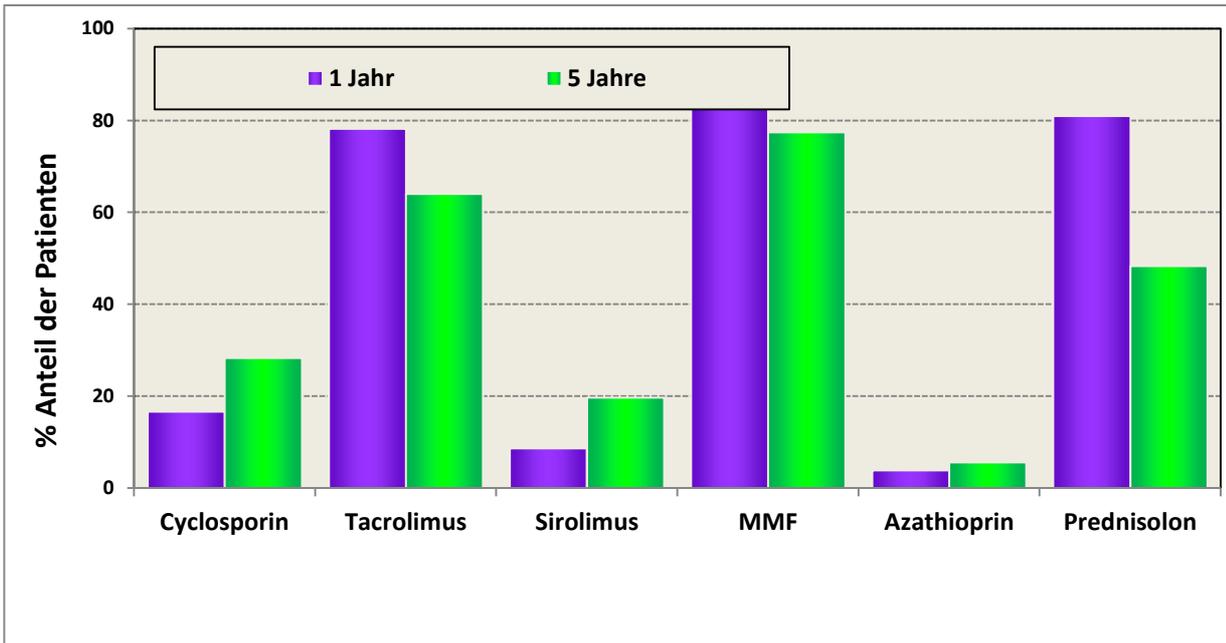
Azathioprin wurde bereits in den 60er Jahren eingeführt. Es wurde und wird häufig mit anderen Substanzen kombiniert. In den letzten Jahren wird es zunehmend durch Mycophenolat Mofetil verdrängt.

Überdies wurde bereits in den Sechzigerjahren die Immunsuppression allogener transplantierte Patienten mittels Glukokortikoiden durchgeführt. Diese stellen bis heute eine wichtige Säule der Therapie dar und sollen später genauer beschrieben werden.

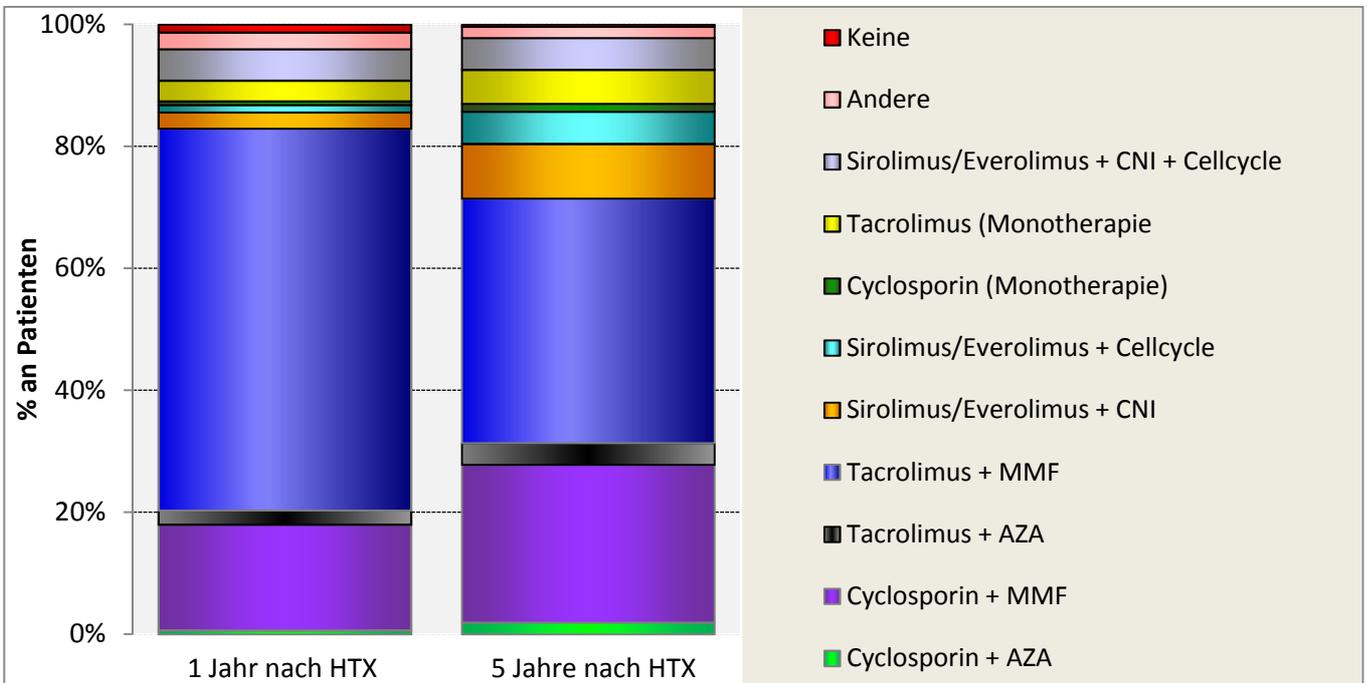
Ein Meilenstein der Immunsuppression war die Einführung des Ciclosporin A in den Achtzigerjahren (Starzl, 1981; Iwatsuki 1988). Dieses wird weiterhin eingesetzt, aber zunehmend durch das in seinem Wirkmechanismus sehr ähnliche Medikament Tacrolimus ersetzt.

2001 wurde mit Sirolimus ein Medikament mit neuem Wirkmechanismus zugelassen. In Kombination mit den bisher eingesetzten Immunsuppressiva kann sein Wirkprofil helfen die notwendige Kortikoiddosis zu senken. Wie auch in der in dieser Arbeit beschriebenen Studie, wird Sirolimus jedoch zunehmend genutzt um eine CNI-freie Therapie zu durchzuführen.

Im Jahr 2013 wurden folgende Substanzen zur Aufrechterhaltung der Immunsuppression ein Jahr nach Herztransplantation eingesetzt: MMF 87%, Prednisolon 81%, Tacrolimus 87%, Cyclosporin 17%, Sirolimus 9%, Azythioprin 4% (Abbildung 1.1). Diese Medikamente werden in verschiedenen Kombinationen, (Abbildung 1.2) aber auch als Monotherapie eingesetzt und sollen im Folgenden genauer beschrieben werden.



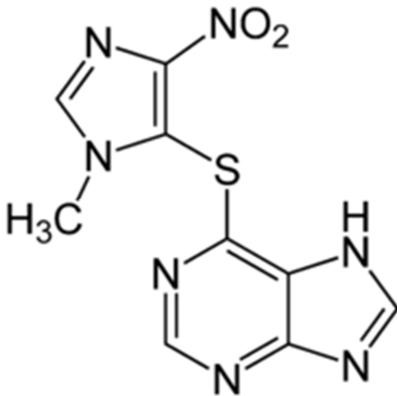
**Abbildung 1.2:** Einsatz der fünf häufigsten Immunsuppressiva ein(lila) bzw. fünf Jahre nach Transplantation (ISLHT 2013)



**Abbildung 1.3:** Häufigkeit weltweit verwendeter immunsuppressiver Therapierewe (ISHLT 2013).

### 1.2.2. AZATHIOPRIN

Azathioprin stammt aus der medizinischen Forschung von Burroughs Wellcome und wurde von Hitchings und Elion entdeckt. 1942 startete der Konzern ein Forschungsprojekt mit dem Ziel, Purinanaloga zu entwickeln, die als antimitotische Medikamente in der Leukämiebehandlung eingesetzt werden sollten. Azathioprin wurde von den beiden biochemischen Forschern nach experimentellen Arbeiten mit 6-Merkaptopurin synthetisiert. Beide erhielten für ihre Arbeiten den Nobelpreis (Land 61, 62).



**Abbildung 1.4:** Strukturformel des Azathioprin

W. G. Land formuliert den Erfolg des Azathioprins in seinem Buch Immunsuppressive Therapie (Land 2006):

*„Die Entwicklung und Verfügbarkeit von Azathioprin hat die klinische Organtransplantation in der ersten Hälfte der 1960iger Jahre aus dem Stadium des puren Experiments in den Zustand eines sinnvollen, gerechtfertigten Therapieversuches verwandelt.“*

Zunächst wurde angenommen, dass der Effekt des 6-Merkaptopurin auf rein antiproliferative Eigenschaften beschränkt ist und die Substanz eine hemmende Wirkung auf die Teilung ausübt. Später fand sich ein selektiver Effekt derjenigen Zellen, die beim Aufbau der humoralen Immunantwort eine Rolle spielen. Weiter, dass 6-Merkaptopurin die IgG-Antikörper hemmt sowie die IgM-Antwort weniger stark beeinflusst wurde. (77). Ricon und Flavell (1990) zeigten, dass die primäre Immunantwort stärker als die sekundäre Reaktion unterdrückt wurde. Später erkannte man, dass Azathioprin gegenüber T-Zellen wirksamer als gegenüber B-Zellen war. Außerdem bewirkt es vermutlich eine Blockade von Interleukin-2 (IL-2).

Azathioprin verhindert über die Mitosehemmung lymphoider Zellen die Teilung aktivierter T- und B-Lymphozyten und hemmt somit deren Proliferation. Diese Wirkung beschränkt sich nicht nur

selektiv auf Lymphozyten, sondern auch auf Knochenmark- und Leberzellen. Diese Wirkung hat zu der limitierten Anwendung von Azathioprin in der Klinik geführt.

Nebenwirkungen von Azathioprin	
Komplikation	Erläuterung
Hämatologische Komplikationen	Knochenmarkdepression, Leukopenie Thrombozytopenie
Hepatotoxizität	
Pankreatitiden	
gastrointestinale Reaktionen	
Alopezie	
Hautfragilität	

**Tabelle 1.1:** Nebenwirkungen von Azathioprin

### 1.2.3. GLUKOKORTIKOIDE

Glukokortikoide finden Anwendung als entzündungshemmende und immunsuppressive Medikamente. Auf dem Gebiet der Organtransplantation werden sie meist in Kombination mit anderen Immunsuppressiva angewandt.

Schon im Jahre 1948 verabreichte der in der Mayo Clinic in Rochester arbeitende Arzt Ph. S. Hench einem Patienten mit rheumatoider Arthritis erfolgreich die erste Kortisondosis (Hench et al.1949). Anfänglich wurden die Steroide von Schlachttieren gewonnen, was erhebliche Kosten verursachte (Allison, 2000). Der Durchbruch gelang mit der synthetischen Herstellung der Steroidmoleküle und der Trennung der Mineralokortikoide.

Heute ist der Wirkmechanismus der Glukokortikoide bekannt: Die Wirkung der Immunsuppression erfolgt hauptsächlich durch Inhibierung des nukleären Faktors „kappa-light chain enhancer“ der aktivierten B-zellen (NF- $\kappa$ B). Dieser ist ein entscheidender Transkriptionsfaktor, der an der Synthese verschiedener Mediatoren beteiligt ist. Supprimiert werden so unter anderen Zytokine und Proteine, wie beispielsweise Adhäsionsproteine, wodurch die Immunantwort des Körpers reduziert wird.

Glukokortikoide unterdrücken die zellvermittelte Immunantwort durch die Hemmung der Gene für die Zytokine IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8 sowie IFN- $\gamma$ . Die Unterdrückung der Zytokine,

insbesondere von IL-2, reduziert die T-zell-Proliferation. Über einen teilweise ungeklärten Wirkmechanismus können Glukokortikoide überdies die Apoptose von unreifen T-Zellen induzieren.

Glukokortikoide unterdrücken indirekt auch die humorale Immunabwehr, indem sie die IL-2 Ausschüttung sowie die IL-2 Expression von B-Zellen reduzieren. Dies verringert beides: - B-Zell Proliferation und Antikörper Produktion. Die reduzierte Menge an IL-2 führt auch zu weniger T-Zellaktivierung. Über die Regulierung von Transkriptionsfaktoren werden überdies FC-Rezeptoren auf Makrophagen und somit deren Zell-Phagozytose supprimiert.

Glukokortikoide sind wirksame antiinflammatorische Mittel. Ungeachtet dessen ist ihr hauptsächlichster Wirkmechanismus die Synthese von Lipocortin-1. Lipocortin-1 unterdrückt die Synthese von Phospholipase A2 durch Hemmung der Eicosanoid Produktion. Dies hemmt verschiedene durch Leukozyten hervorgerufene entzündliche Mechanismen, wie Auswanderung von Zellen, Chemotaxis und Phagozytose. Genauer gesagt supprimieren Glukokortikoide nicht nur die Immunantwort, sondern hemmen eben auch die verantwortlichen Botenstoffe der Entzündungsreaktion, Prostaglandine und Leukotriene.

Über die immunologischen und entzündungshemmenden Effekte hinaus treten folgende Wirkungen auf:

- Blutdruckanstieg durch vermehrte Glukoneogenese
- Senkung des Glukoseverbrauchs in der Peripherie
- Senkung der Lipolyse (Konzentration der Fettsäuren steigt) sowie katabole Wirkungen auf den Proteinstoffwechsel
- Muskelschwäche (bei hoher Glukokortikoidkonzentration aufgrund von Proteinkatabolismus)

Die mineralokortikoide Wirkung führt zu

- Blutdruckanstieg durch Kalium, Wasserstoffionen sowie Natriumretention
- Abbau von Knochensubstanz
- Beeinflussung des Zentralnervensystems:
  - Steigerung der Erregbarkeit gegenüber sensorischer Reize.
  - Euphorisierende und depressionsauslösende Wirkung sowie
  - Senkung der Krampfschwelle wird berichtet.

Glukokortikoide zeigen keine toxische Wirkung. Unerwünschte Nebenwirkungen treten in hohen, unphysiologischen Dosen auf, wie sie im Rahmen der immunsuppressiven Therapie notwendig sind. Sie limitieren leider die wiedererlangte Lebensqualität. Die Nebenwirkungen werden durch die Gabe weiterer Immunsuppressiva noch erhöht und sogar potenziert.

Es soll kurz auf die spezifischen Nebenreaktionen von Glukokortikoiden in der Transplantationsmedizin eingegangen werden (siehe auch Tabelle 1):

Bei transplantierten Patienten unter Steroidgabe zeigt sich häufig eine Gewichtszunahme nach ca. drei Monaten. Erklärt wird dies in erster Linie mit einer Appetitsteigerung. Die lediglich kosmetisch störende Komplikation des cushingoiden Aussehens ist jedoch ein Ausdruck der hohen Steroidtherapie. Der Bluthochdruck andererseits kann ein limitierender Faktor für eine erfolgreiche Organtransplantation sein.

Ein verzögertes Körperwachstum war eines der enttäuschenden Ergebnisse der Nierentransplantation bei Kindern. Dieses Phänomen ist ein multifaktorielles Geschehen, an denen die Steroide einen Mitanteil haben. Weitere unerwünschte Nebenwirkungen sind Störungen im Fett- und Kohlenhydratstoffwechsel. Zu berücksichtigen ist, dass es durch die Induktion einer Hyperlipidämie beim Empfänger, (Autoarteriosklerose) als auch im Transplantat (Alloarteriosklerose) zu Gefäßveränderungen kommen kann.

Grund für das Auftreten eines Steroiddiabetes mellitus ist die Induktion einer Insulinresistenz, der Glukoneogenese und der Hyperglukagonämie. Weiter werden auch die verminderte zelluläre Glukoseaufnahme und die Reduktion von Zahl und Affinität der Insulinrezeptoren diskutiert. Diese wird als Posttransplantationsdiabetes bezeichnet.

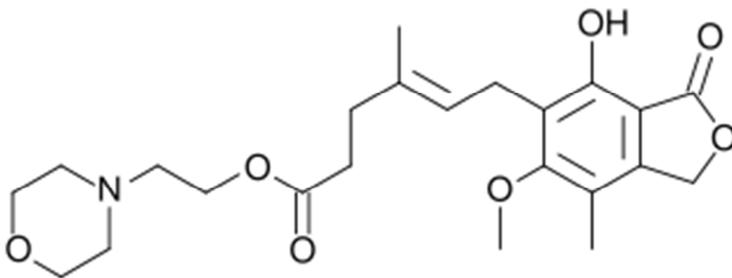
Die Nebenwirkungen am Zentralnervensystem sind aufgrund hoher Steroiddosen Stimmungsschwankungen. Das Auftreten psychiatrischer Erkrankungen wurde ebenfalls mit der Therapie in Verbindung gebracht.

Hautveränderungen sind ebenfalls typische unerwünschte Begleiterscheinungen einer Langzeitimmunsuppression. Häufig festgestellt werden: Akne, Pergamenthaut (durch Verlust des Kollagens) und Warzen.

Komplikationen der Steroidtherapie	
Komplikation	Erläuterung
Cushingoides Aussehen	Stammfettsucht aufgrund von Veränderungen des Lipidstoffwechsels
Adipositas	Veränderungen des Zuckerstoffwechsels, Lipidstoffwechsels. Appetitzunahme
Antiinflammatorische-antiproliferative Nebenwirkungen	Beeinflussung der Infektabwehr, gestörte Wundheilung
Metabolische Reaktionen	Diabetes mellitus bei genetischer Disposition, Hyperlipidämie
Hypertonie	
Verzögertes Körperwachstum	
Psychiatrischer Erkrankungen	Spezifische Wirkung auf das Zentralnervensystem
Hauterkrankungen	Akne Pergamenthaut (durch Verlust des Kollagens) Warzen

**Tabelle 1.2:** Zusammenfassung häufiger Komplikationen der Steroid-Therapie in der Transplantationsmedizin

#### 1.2.4. MYCOPHENOLAT MOFETIL (MMF)



**Abbildung 1.5:** Strukturformel des MMF

Bei Patienten mit Nieren-, Herz- oder Lebertransplantation wird MMF meist zusammen mit Ciclosporin bzw. Tacrolimus und Corticosteroiden zur Vorbeugung der akuten Transplantatabstoßungen verwendet.

## Entwicklung des MMF:

Schon 1896 wurde die MPA (Mycophenolsäure), der zu Grunde liegende Wirkstoff von MMF, aus Maisbrühekulturen isoliert. (Gosio B 1896). Zum Ende der 1960er Jahre wurde die Eigenschaft von MMF, die Proliferation von Krebszellen durch die Unterdrückung der IMPDH (Inosinmonophosphat-Dehydrogenase) entdeckt. (Franklin TJ 1969). Die Bioverfügbarkeit der MPA war jedoch schlecht und die Forscher Allison und Eugui entwickelten seinen Morpholinoäthylester, den man als Vorstufenmedikament eines Immunsuppressivums einsetzen konnte. (Allison AC 2000)

Die Notwendigkeit ein neues Immunsuppressivum zu entwickeln war auch dadurch gegeben, dass Ciclosporin A nephrotoxisch ist und 40% der Transplantatempfänger unter dieser Therapie Transplantatabstoßungen zeigten. Allison und Eugui versuchten eine Substanz mit einer reversiblen zytostatischen Wirkung, also eine gezielte Hemmung des Wachstums von Lymphozyten, zu finden. Die Substanz sollte keine nephrotoxischen, leberschädigenden oder andere schädigende Wirkungen aufweisen. Es wurde nach einem Reaktionsweg gesucht, dessen Hemmung selektiv B- und T-Lymphozyten beeinflussen sollte. Man entdeckte die IMPDH, das Enzym, das durch die MPA inhibiert werden sollte (Allison AC 2000).

Die Arbeitsgruppe um Randall Morris in Stanford untersuchte als Erste die immunsuppressive Wirkung von MMF. Hans Werner Sollinger prägte den weiteren Verlauf von MMF erheblich. Dass MMF entwickelt wurde und heute als Immunsuppressivum erhältlich ist, ist hauptsächlich ihm zu verdanken (Sollinger HW 1996).

## Wirkmechanismus:

Damit MMF seine immunsuppressive Wirkung entfalten kann, ist es notwendig, dass die IMPDH, das Schlüsselenzym für die Purinbiosynthese und somit für die Herstellung der DNA, gehemmt wird. Die Mitose wird unterbrochen und letztendlich die Synthese der B und T-Lymphozyten arretiert. (Allison AC 1994, Allison AC 1996, Villarreal MC 2009)

## Nebenwirkungen:

Relativ häufige Nebenwirkungen (bei über 10 % der Patienten):

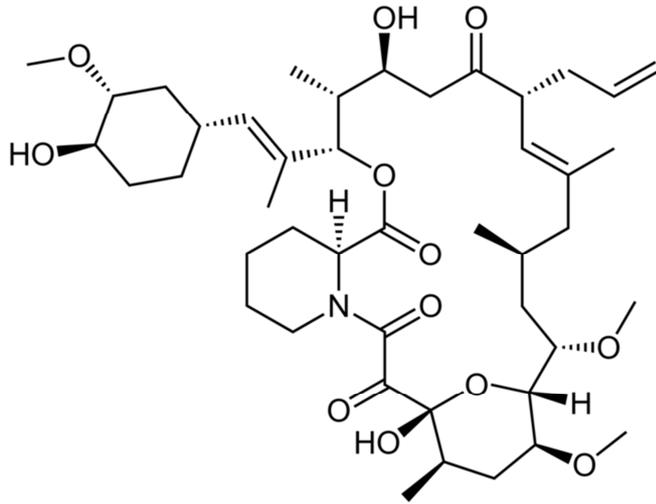
- Myelosuppression:
  - Anämie
  - Thrombozytopenie
- Intestinale Beschwerden:

- Übelkeit
- Erbrechen
- Durchfall.

Da das Immunsystem gehemmt wird, treten häufiger Infektionen (Sepsis, Candidose, Herpes simplex, Herpes zoster) auf.

Bei Schwangeren sollte MMF, wenn möglich, nicht angewandt werden, da vermehrt Missbildungen auftreten (Rote Hand Brief CellCept 2007, 2008).

### 1.2.5. TACROLIMUS



**Abbildung 1.6:** Strukturformel des Tacrolimus

Tacrolimus oder auch FK-506 oder ist ein Immunsuppressivum, das hauptsächlich nach allogenen Organtransplantationen eingesetzt wird, aber auch bei der Behandlung der atopischen Dermatitis, nach Knochenmarkstransplantationen und der Minimal Change Glomerulonephritis (McCormack PL 2006). Strukturell handelt es sich um ein Macrolid-Lacton, das 1984 aus dem Bakterium *Streptomyces tsukubaensis* isoliert wurde (Kino T. 1987). 1994 wurde Tacrolimus in den USA zum ersten Mal für die Behandlung lebertransplantierte Patienten, später dann auch für andere Indikationen wie Nierentransplantation, Knochenmarks- oder Corneatransplantationen zugelassen (Kino T.1993).

#### Wirkungsmechanismus

Bei T-Zellen steigt durch die Aktivierung des T-Zell-Rezeptors normalerweise das intrazelluläre Calcium, welches durch die Aktivierung von Calmodulin wiederum Calcineurin aktiviert. Calcineurin dephosphoryliert den Transkriptionsfaktor NF-AT (Nuclear factor der aktivierten T-Zellen) was dazu führt, dass die Aktivität von Genen und Zytokinen, die für IL-2 kodieren, steigt (Crespo-Leiro MG 2005). Um genauer zu sein, Tacrolimus bindet an Immunophilin FKBP12 (FK506 Bindeprotein), dadurch kommt es zu einem neuen Komplex, der die Aktivität der Peptidyl-prolyl Isomerase senkt.

Dieser Komplex interagiert mit Calcineurin und hemmt dadurch die T-Zell Transduktion und Transkription (Liu J 1991).

Der Wirkungsmechanismus ähnelt zwar dem des Ciclosporin, doch haben Studien gezeigt, dass Tacrolimus bei der Verhinderung von akuten Abstoßungen gegenüber Ciclosporin überlegen ist (Grimm et al. 2006). Obwohl sich die Ergebnisse zwischen Tacrolimus und Ciclosporin bei Kurzzeit-Studien in Bezug auf die Überlebensrate kaum unterscheiden, zeigt Tacrolimus ein besseres Lipid-Profil, was wiederum wichtige Auswirkungen in Bezug auf Abstoßung und Transplantatüberleben haben kann (Abou-Jaoude et al. 2005).

## **Nebenwirkungen**

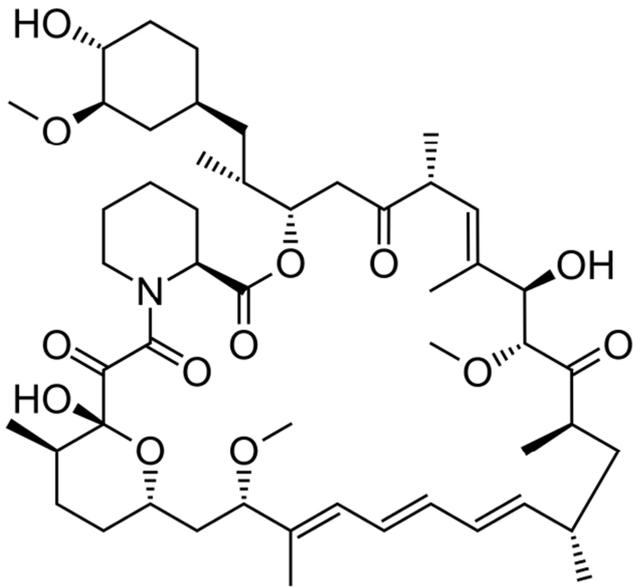
Die Nebenwirkungen, die auftreten können sind unter anderem:

- Hypertension
- Lebertoxizität
- Nephrotoxizität (Naesens M 2009)
- Hyperkaliämie
- Hypomagnesiämie,
- Hyperglykämie
- Diabetes mellitus
- Verschwommen sehen
- Neuropsychiatrische Probleme wie: Appetitverlust, Schlaflosigkeit, Verwirrung, Depressionen und Katatonie (O'Donnell MM 2007)
- Infektionen, insbesondere: Pilzkrankungen und Herpes Zoster-Infektionen

Die häufigsten Nebenwirkungen, besonders wenn es über lange Zeit eingenommen wird, sind brennendes oder juckendes Hautgefühl anfänglich und später zunehmende Lichtsensitivität.

Weniger häufige Symptome sind grippe-ähnliche Symptome wie Kopfschmerzen und brennende Augen.

### 1.2.6. SIROLIMUS



**Abbildung 1.7:** Strukturformel von Sirolimus

Sirolimus (INN/USAN), bekannt als Rapamycin, wird als Immunsuppressivum zur Verhinderung einer Abstossungsreaktion bei allogenen Transplantationen verwendet. Besonders hat es sich bei Nierentransplantationen bewährt. Durch Inhibierung der Interleukin-Antwort, verhindert es, dass es zur Aktivierung von B und T-Zellen kommt (Saunders 2001). Sirolimus wird auch zur Beschichtung von Koronarstents verwendet und verhindert dadurch die Reendothelialisierung der Gefäße (Toutousas K 2002).

Sirolimus ist ein Immunsuppressivum mit Macrolidstruktur. Es wurde von brasilianischen Forschern in einer Bodenprobe auf den Osterinseln aus dem Streptomyzeten *Streptomyces hygroscopicus* isoliert (Vezina C 1975). Die Insel ist auch unter dem Namen Rapa Nui bekannt, daher der heute gebräuchliche Handelsname Rapamune (Pritchard DI 2005). 1999 wurde es von der FDA zugelassen und ist heute unter dem Namen Rapamune von Pfizer erhältlich. Ursprünglich wurde Sirolimus als Antipilzmittel entwickelt. Diese Verwendung wurde jedoch verboten, als entdeckt wurde, dass Sirolimus potente antiproliferative und immunsuppressive Eigenschaften hat.

**Wirkungsmechanismus:**

Anders als das dem Namen nach ähnliche Immunsuppressivum Tacrolimus, ist Sirolimus kein Calcineurininhibitor. Sirolimus ist ein m-TOR-Inhibitor (Mammalian Target of Rapamycin) und hemmt die Interleukin-2- vermittelte Antwort auf das Immunsystem. Als sogenannter m-TOR Inhibitor, -dieser ist eine Serin-Threoninkinase, -inhibiert es Cytokin-vermittelte Signaltransduktionswege (Saunders RN 2001). Somit kommt es nicht zur Aktivierung der S6-Kinase (p70S6) und folglich nicht zur Proteinbiosynthese. Somit bleibt die Aktivierung des ribosomalen Proteins S6 aus. Die Progression der T-Zellen von der G1-Phase in die S-Phase des Zellzyklus unterbleibt, und zwar dadurch dass m-TOR inhibiert wird und somit die Aktivierung der p34cdc2 Kinase und dadurch die Komplexbildung mit Cyclin E unterbleibt.

Patienten, die eine Langzeitbehandlung mit Calcineurininhibitoren bekommen, entwickeln auf Dauer eine Niereninsuffizienz (Keogh A 2004). Der große Vorteil, den Sirolimus gegenüber den Calcineurininhibitoren hat, ist seine geringe Toxizität auf die Niere. (Saunders RN 2001). Dieses Problem kann man mit diesem Medikament umgehen. Sirolimus kann in Kombination mit Calcineurininhibitoren oder MMF gegeben werden, um Kortison-freie Therapieregime zu unterstützen. Auch soll Sirolimus die Häufigkeit von CMV-Infektionen senken (Keogh A 2004, Eisen HJ 2003).

**Nebenwirkungen:** (Thibodeau JT 2013)

- Interstitielle Pneumonitis
- Pneumonie
- Harnwegsinfektionen
- Sepsis
- Mykotische, virale und bakterielle Infektionen
- Maligne Neoplasie der Haut
- Lymphome
- Thrombozytopenie
- Anämie
- Purpura Schönlein-Henoch
- Leukopenie
- HUS
- Hypokaliämie

- Verzögerte Wundheilung
- Hypertriglyceridämie
- Diabetes mellitus
- Pericardergüsse
- Lymphödeme
- Akne

Schwangeren sollte Sirolimus nur gegeben werden, wenn kein anderes Immunsuppressivum verfügbar ist (Flechner 2009). Schädigung der Lunge ist eine ernsthafte Komplikation bei der Therapie mit Sirolimus, vor allem bei Lungentransplantierten Patienten (McWilliams TJ 2003, Morelon E 2001, Filippone EJ 2011, Pham PT 2004, Mingos MA 2005, Delgado JF 2006).

Der Mechanismus der interstitiellen Pneumonitis, der von Sirolimus und anderen m-TOR-Inhibitoren verursacht wird, ist unklar, könnte aber unabhängig vom Wirkmechanismus der m-TOR-Inhibitoren sein (Aparicio G 2009, Paris A. 2012, Maroto JP 2011). Die interstitielle Pneumonitis ist nicht dosisabhängig. Sie ist häufiger bei Patienten mit zugrundeliegender Lungenerkrankung (Errasti P 2010, Chhajed PN 2006).

Tierversuche konnten nachweisen, dass die Hemmung des Proteinkinase-Komplex TORC1 für die meisten positiven Effekte verantwortlich ist. Die Beeinflussung des TORC2 Komplexes soll für die diabetischen Symptome verantwortlich sein, d.h. es kommt zu einer verminderten Glucosetoleranz und die Sensitivität auf Insulin sinkt (Lamming DW 2012).

Wie bei allen Immunsuppressiva, erhöht auch Sirolimus das Krebsrisiko für bestimmte Krebsarten. Jedoch konnten Campistol et al (Campistol J.M. 2009) zeigen, dass mTOR-Inhibitoren im Vergleich zu Calcineurininhibitoren eine niedrigere Rate an Malignomentstehungen zeigen. Patienten unter immunsuppressiver Therapie haben im Vergleich zur Normalbevölkerung ein höheres Risiko einer Krebsentstehung (Aliabadi A 2012). Nach ISHLT beträgt das Gesamtaufreten von Malignomen nach einem Jahr 2,7% und nach 10 Jahren 28,7% (Stehlik 2011). Ungefähr 10% der transplantierten Patienten, die mit Calcineurininhibitoren behandelt werden, entwickeln nach 70 Monaten Hauttumore und Lymphome. Patienten, die gegenwärtig wegen eines Krebsleidens behandelt werden und unter immunsuppressiver Therapie stehen, haben eine höhere Rate an Tumorprogression und Rückfallraten als Patienten die keine Immunsuppression erhalten (Ponticelli C 2014).

### **1.3. VORARBEITEN**

In einer prospektiven Konversionsstudie wurden 33 niereninsuffiziente, herztransplantierte Patienten von einer Calcineurin-Inhibitor-basierten Immunsuppression auf die Kombination Sirolimus und MMF umgestellt. Groetzner J und Mitarbeiter zeigten, dass ein komplettes Absetzen des Calcineurin-Inhibitors und eine Fortführung der Immunsuppression mit der Kombination aus MMF und Prednisolon die Nierenfunktion der Patienten signifikant verbessert, es aber während des einjährigen Follow-up bei Patienten zu zellulärer Abstoßung oder der Aggravierung der vorbestehenden Transplantatvaskulopathie kam. 29 Patienten vertrugen die neue Therapie gut. Die Nierenfunktion konnte signifikant verbessert werden.

## **2. FRAGESTELLUNG**

An der Herzchirurgischen Universitätsklinik München-Großhadern ist die medikamentöse Therapie nach Transplantationen einer der wichtigsten Bestandteile der Transplantationsmedizin. Die immunsuppressive Therapie unterliegt dem ständigen Wandel der Forschung und ist mittlerweile weit fortgeschritten. In zahlreichen Studien zum Nebenwirkungsprofil der Calcineurininhibitoren wurde auf deren hohe Nephrotoxizität hingewiesen. Calcineurininhibitor-freie Immunsuppression wurde nach Hertransplantation bislang lediglich nach einer initialen Phase basierend auf einem Calcineurininhibitor durchgeführt. Die Therapie der Patienten wurde dementsprechend erst in einem abstoßungsfreien Intervall nach der Transplantation umgestellt.

### **2.1. ZIEL DER ARBEIT:**

Im Rahmen dieser Arbeit galt es herauszufinden, ob eine de novo Calcineurininhibitor-freie Immunsuppression, das bedeutet beginnend mit der Transplantation, möglich ist. Untersucht wurde daher:

- Transplantatabstoßung und das Auftreten einer Transplantatvaskulopathie
- Das Nebenwirkungsprofil der Calcineurininhibitor-freien Immunsuppression insbesondere in Hinblick auf Nephrotoxizität und Lipidstatus

## 3. PATIENTEN UND METHODIK

### 3.1. STUDIENDESIGN

Von Mai 2003 bis Januar 2004 wurden Patienten in die prospektive Single-Center-Studie aufgenommen, in der sie nach orthotoper Herztransplantation mit Calcineurin-Inhibitor-freier Immunsuppression behandelt wurden. Die Studie wurde nach den Statuten der Helsinki-Deklaration<sup>1</sup> durchgeführt.

### 3.2. ETHIKKOMMISSION

Diese Studie wurde formell von der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München geprüft und gebilligt. Jeder Teilnehmer wurde vor Zustimmung und Aufnahme in die Studie ausreichend informiert und aufgeklärt. Die Einverständniserklärungen der Patienten wurden schriftlich eingeholt.

### 3.3. PATIENTEN

An dieser Untersuchung nahmen fünfzehn konsekutive Patienten teil, bei denen eine orthotopie Herztransplantation in der Klinik und Poliklinik für Herzchirurgie am Klinikum der Universität München durchgeführt wurde.

Präoperativ wurde bei allen Patienten der HLA-Antikörper Level mittels PRA bestimmt. Ein Crossmatch wurde nicht durchgeführt.

### 3.4. EIN- UND AUSSCHLUSSKRITERIEN DER STUDIE

#### ***EINSCHLUSSKRITERIEN:***

- Patienten über 18 Jahre, bei denen eine orthotopie Herztransplantation geplant war.
- Akzeptanz und Einwilligung in regelmäßiger Nachsorgeuntersuchungen (Follow-up) ®

#### ***AUSSCHLUSSKRITERIEN***

- Eine zuvor durchgeführte Herztransplantation
- andere Transplantationen

---

<sup>1</sup> Deklaration des Weltärztebundes zu ethischen Grundsätzen für die medizinische Forschung am Menschen; 1964 verabschiedet, mehrfach revidiert

- ein pulmonaler Hypertonus
- eine präoperative Therapie mittels eines Herzunterstützungssystems
- signifikant erhöhten Entzündungsparametern (CRP größer als 1mg/dl)
- andere erkennbare Infektionen
- Patienten mit positivem Nachweis von HIV, Hepatitis-B oder -C
- Schwangerschaft oder nichteffektive Kontrazeption
- Neoplasien in der Vorgeschichte
- Teilnahme an anderen Studien.

### 3.5. THERAPIE

Alle Patienten erhielten postoperativ die folgende medikamentöse Therapie

#### ***INDUKTIONSTHERAPIE***

Eine Induktionstherapie mit Antithymozyten Globulin (ATG-Fresenius®, Fresenius AG, Bad Homburg) wurde unmittelbar vor der Transplantation sowie an den ersten fünf postoperativen Tagen gegeben: Verabreicht wurden 6m/kg am Tag der Transplantation und 3mg/kg pro Tag danach.

#### ***IMMUNSUPPRESSIVE DAUERMEDIKATION***

Zur Aufrechterhaltung der Immunsuppression wurden allen Patienten die folgenden Medikamente verabreicht:

#### **CORTICOSTEROIDE**

Nach einem ersten intraoperativen Bolus von 500mg **Methylprednisolon** (Urbason®, Sanofi-Aventis, Frankfurt) folgte am ersten postoperativen Tag alle acht Stunden eine Wiederholte Gabe von 125mg.

Danach wurde **Prednisolon** (Prednisolut®, Mibe GmbH, Sandersdorf-Brehna) oral verabreicht und die Dosis wurde über einen Zeitraum von 4 Wochen von initial 1mg/kg/Tag auf 0,1mg/kg/Tag ausgeschlichen. Nach 6 Monaten wurde Prednisolon abgesetzt.

**SIROLIMUS**

Sirolimus (Rapamune®, Wyeth Pharma, Münster) wurde oral verabreicht. Die Dosis betrug 6mg/dl am ersten Tag nach der Transplantation, im folgenden Zeitraum 2mg/dl pro Tag bis der gewünschte Plasmaspiegel erreicht war. Es wurde ein Talspiegel zwischen 10 und 15ng/ml angestrebt.

**MMF**

MMF (Cellcept®, Roche Pharmaceuticals AG, Basel, Schweiz) wurde in den ersten 2-3 Tagen in einer Dosierung von zweimal täglich 1g intravenös verabreicht und anschließend oral in derselben Dosierung weitergegeben.

Die nötige Höhe der Spiegel wurde durch die Bestimmung der Mycophenolsäure (MPA) festgelegt. Diese wurde mittels eines etablierten Essays (Dade, Behring/EMIT) durchgeführt. Angestrebte Talspiegel lagen zwischen 1,5 und 4 microgramm/ml bei einer Mindestdosierung von 1g pro Tag.

Plasmaspiegel für MMF und Sirolimus wurden in den ersten zwei postoperativen Wochen täglich bestimmt. In der folgenden Zeitperiode wurden die Bestimmungen wöchentlich bzw. jede zweite Woche durchgeführt.

***CMV-PROPHYLAXE***

Sechs der fünfzehn Patienten wurde aufgrund einer Hochrisiko-Konstellation (Empfängerneгативität bei Spenderpositivität für CMV) Valganciclovir (Valcyte®, Hoffmann–La Roche, Basel, Schweiz) verabreicht. Die CMV-Prophylaxe wurde nach drei Monaten beendet.

***PNEUMOCYSTIS PROPHYLAXE***

Über sechs Monate wurde allen Patienten zweimal wöchentlich 160 mg Trimethoprim sowie 800 mg Sulfamethoxazol (Bactrim forte®, Hoffmann–La Roche, Basel, Schweiz) verabreicht.

### 3.6. BEHANDLUNGSZEITRAUM UND FOLLOW-UP:

Die Behandlungs- und Nachuntersuchungszeiträume dieser Studie beziehen sich auf die Zeit zwischen Mai 2003 und April 2005.

#### **ABBRUCHSGRÜNDE:**

Gründe die Studienmedikation abzusetzen waren akute Abstoßungsreaktionen Transplantatvaskulopathie (TVP), Nierenversagen sowie ein Zurücktreten des Patienten von der Einwilligung in die Studie.

#### **LABORPARAMETER**

Blutbild und die Plasmaspiegel von MMF und Sirolimus wurden die ersten zwei Wochen täglich und anschließend in einem Intervall von ein bis zwei Wochen bestimmt.

Labor-Parameter die in dieser Studie untersucht und ausgewertet wurden, waren:

- Serumharnstoff
- Serumkreatinin
- Cholesterin und Triglyzeride

#### **ECHOKARDIOGRAPHIE**

Alle echokardiographischen Untersuchungen (SONOS 5500 Hewlett Packard, Palo Alto, USA) wurden transthorakal von echokardiographisch geschulten und erfahrenen Ärzten durchgeführt. Untersucht wurde neben der Klappenfunktion insbesondere die rechts sowie linksventrikuläre Pumpfunktion.

#### **BIOPSIEN UND HISTOLOGIE**

Gemäß dem standardisierten postoperativen Nachsorgeschema des Universitäts-Klinikums Großhadern wurden **Endomyokardbiopsien** entnommen, um die Abstoßungsreaktionen nach 1,2,3,4,6,8 und 12 Wochen und 4,5,6,9 und 12 Monaten zu bestimmen.

Die Myokardbiopsien wurden histologisch auf Hinweise für Abstoßung untersucht und gemäß den Kriterien der Internationalen Gesellschaft für Herz und Lungen Transplantation (ISHLT) klassifiziert. Als Abstoßung wurden ein ISHLT-Grad höher als zwei, oder ein Grad Ib in Kombination mit Behandlung behandlungsbedürftiger klinischer Symptome beurteilt.

Im Falle einer Abstoßungsreaktion wurde unmittelbar die folgende Therapie eingeleitet: Drei-tägige intravenöse Methylprednisolon Gabe in einer Dosis von 500mg/Tag.

Wenn histologisch ein ISHLT-Grad  $\geq$  IIIa vorlag, wurde die Therapie zur Sicherheit auf ein Therapieschema mit CNI gewechselt.

### ***KORONARANGIOGRAPHIE***

Bei der Koronarangiographie wurden die Gefäße des Herzens invasiv unter Gabe von Kontrastmittel mit Hilfe von Röntgendurchleuchtung dargestellt. Mit der Koronarangiographie konnten Gefäßstenosen mit hoher Sensitivität erfasst werden.

Angiographisch wurde nach drei Grundtypen der TVP unterscheiden (Erdmann 2000):

- Früh auftretende, diffuse Obliterationen durch homogene Intimaproliferation mit Seitenastabbrüchen und Verdämmerung der Endäste
- Zunächst proximale fokale Stenosen, ähnlich denen der nativen Koronarkrankheit, später Mischung mit distaler, diffuser TVP
- Nicht-obliterierende, dilatierende Angiopathie mit Flußverzögerung

Schwere Niereninsuffizienz wurde als Kontraindikation für einen Einsatz jeglicher Kontrastmittel angenommen.

### ***PROPHYLAKTISCHE THERAPIEN***

Eine **CMV- Prophylaxe** wurde in 6 von 15 Fällen über einen Zeitraum von 3 Monaten gegeben.

Dies waren alle Fälle, bei denen die Empfänger CMV negativ und die entsprechenden Organspender jedoch CMV positiv war.

Eine **Prophylaxe** gegen Pneumozystis jiroveci erfolgte zweimal pro Woche mit 160mg Trimethoprim und 800mg Sulfamethoxazol über einen Zeitraum von 6 Monaten.

### **3.7. STATISTIK**

Die statistische Auswertung erfolgte unter Verwendung der Software SPSS 15. Die Kurve für die Überlebensrate, sowie die Freiheit von Abstoßungsreaktionen wurde anhand der Kaplan-Meier-Überlebensschätzung berechnet. Berücksichtigt wurden das Ausbleiben von Abstoßungsreaktionen und das Gesamtüberleben der Patienten. Der Wilcoxon-Test wurde für die Beurteilung der Labordaten herangezogen.

## 4. ERGEBNISSE

### 4.1. DEMOGRAPHIE

Fünfzehn Patienten wurden in die Studie aufgenommen. Fünf der Patienten waren weiblichen, zehn männlichen Geschlechts. Die Patienten waren im Mittel 53 ( $\pm$  8,5) Jahre alt. Bei allen Patienten war aufgrund einer terminalen Herzinsuffizienz die Indikation zur Transplantation gestellt worden. Die Ursache der Herzinsuffizienz war in 8 Fällen eine dilatative, in sieben Fällen eine ischämische Kardiomyopathie.

Der präoperative PRA-Level war bei alle Patienten niedriger als 10%.

### 4.2. STUDIEN MEDIKATION

Keiner der Patienten ist von der Teilnahme an der Studie zurückgetreten. In Tabelle 4.1 sind Tagesdosen und Plasmaspiegel von Sirolimus sowie MMF aufgelistet.

		<b>Minimal</b>	<b>Maximal</b>	<b>Mittel <math>\pm</math>SD</b>
<b>Sirolimus 1. Jahr</b>	Dosis (mg/Tag)	1,5	3	2,1 $\pm$ 0,5
	Plasmaspiegel (mg/l)	8,7	14,9	11,6 $\pm$ 1,9
<b>Sirolimus 5 Jahre</b>	Dosis (mg/Tag)	0,75	1,5	1,3 $\pm$ 0,3
	Plasmaspiegel (mg/l)	6,9	16	9,8 $\pm$ 3,3
<b>MMF 1. Jahr</b>	Dosis (mg/Tag)	500	2750	1531 $\pm$ 806
	Plasmaspiegel (ng/ml)	0,5	4,3	2,3 $\pm$ 1,2
<b>MMF 5 Jahre</b>	Dosis (mg/Tag)	750	3000	1791 $\pm$ 940
	Plasmaspiegel (ng/ml)	0,4	4,2	2,5 $\pm$ 1,3

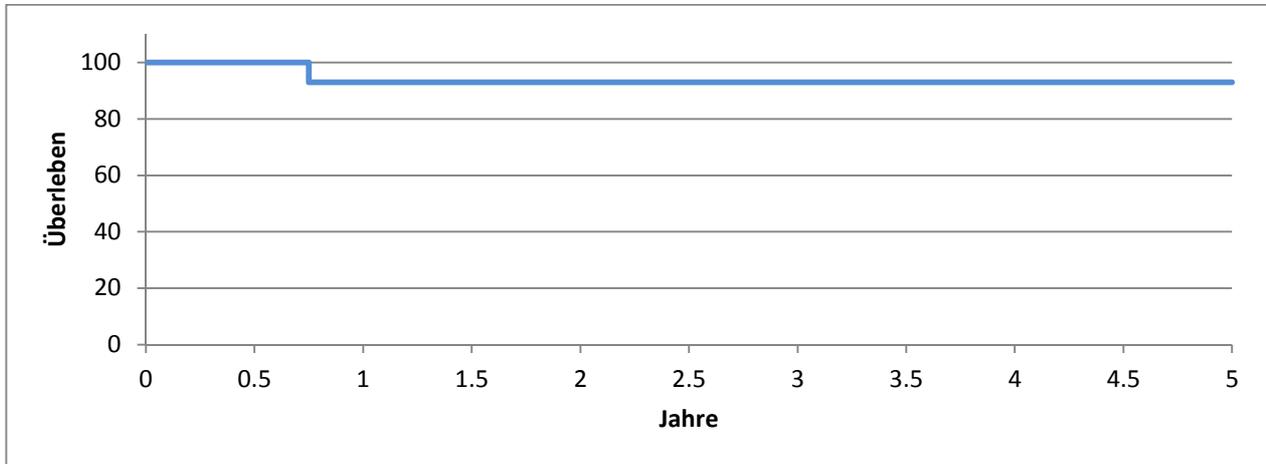
**Tab. 4.1:** Tagesdosis sowie Plasmaspiegel von Sirolimus und MMF

### 4.3. ÜBERLEBEN

Nach einer 5-Jahres-Follow-up-Periode waren von 15 Patienten 14 am Leben. Die Überlebensrate war 87,5%.

Nur ein Patient verstarb 9 Monate nach der Transplantation aufgrund eines Adenokarzinoms der Lunge. Vor der Herztransplantation war bei diesem Patienten eine Verschattung in der Röntgen-Thorax Untersuchung aufgefallen. Zum Ausschluss einer malignen Erkrankung war präoperativ eine Computer-Tomographie-kontrollierte Biopsie durchgeführt worden. Vermutlich war bei der Biopsie vor der Transplantation unglücklicherweise kein repräsentatives Material des Tumors

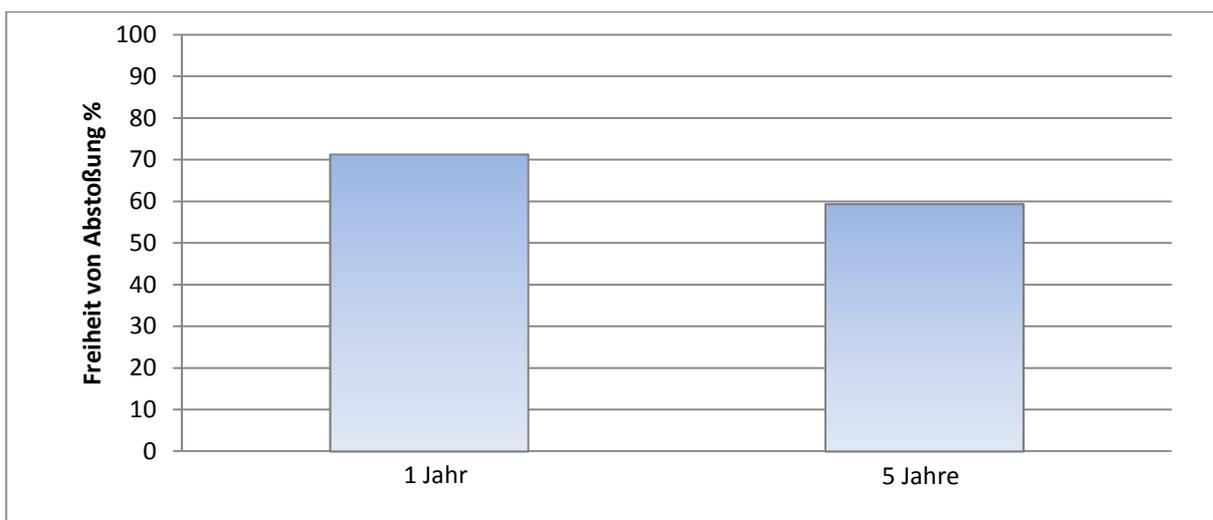
entnommen worden. Bei allen anderen Patienten trat im untersuchten Zeitraum von fünf Jahren keine maligne Erkrankung auf.



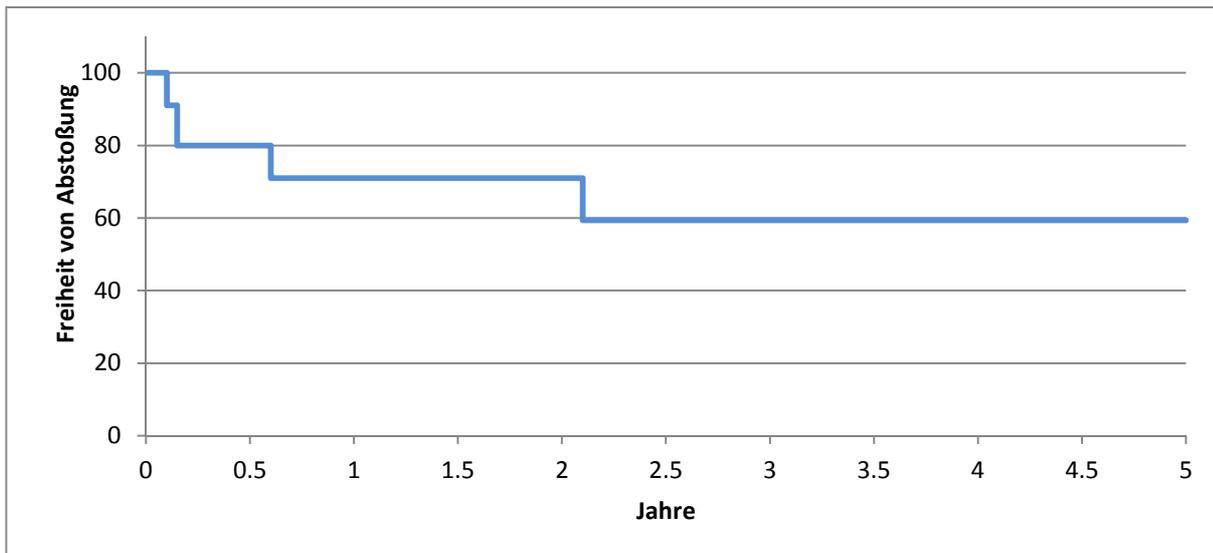
**Abbildung 4.1:** Kaplan-Meier-Überlebensanalyse: Nach fünf Jahren war die Überlebensrate 87,5%.

#### 4.4. ABSTOSSUNGSREAKTIONEN

Eine akute Abstoßung trat bei 4 Patienten auf. Die Freiheit von Abstoßungsreaktionen war 71,3% nach einem Jahr, 59,4 % nach 5 Jahren. (behandelt oder Biopsie-belegt gemäß der aktuellen ISHLT-Graduierung)



**Abbildung 4.2:** Anteil an Patienten, die nach einem bzw. fünf Jahren frei von Abstoßung waren



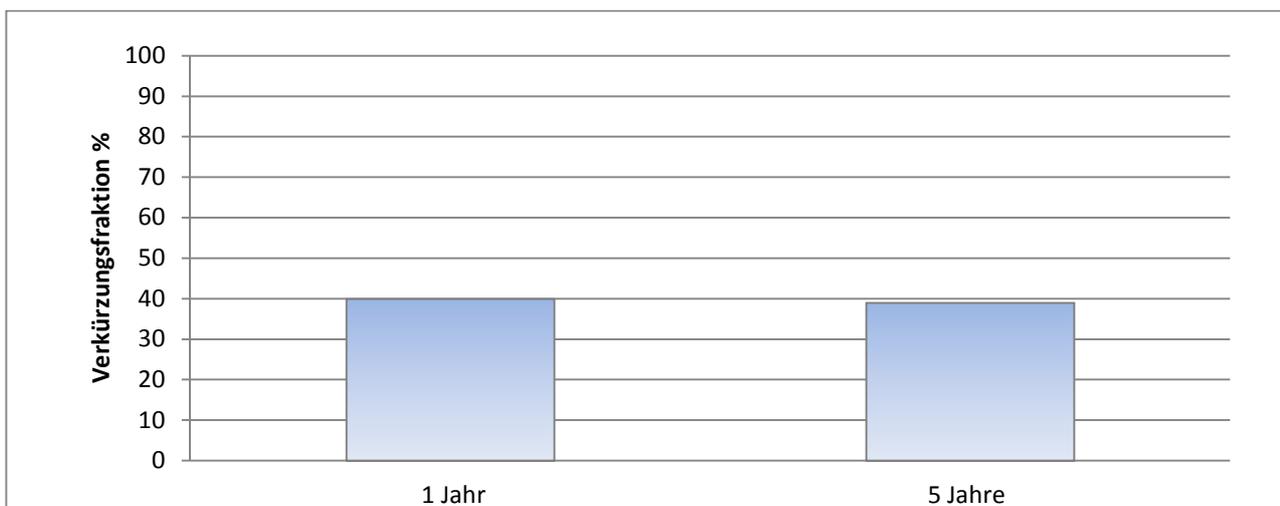
**Abbildung 4.3:** Freiheit von akuter Abstoßung betrug nach einem Jahr 71,3% nach 5 Jahren 59,4%

#### 4.5. TRANSPLANTATVASKULOPATHIE

In unserem Kollektiv trat weder nach einem noch nach fünf Jahren eine Transplantatvaskulopathie auf.

#### 4.6. PUMPFUNKTION

Die linksventrikuläre myokardiale Verkürzungsfraktion blieb mit  $39,9 \pm 2,4\%$  und  $39 \pm 3,2\%$  nach einem bzw. fünf Jahren unverändert.



**Abbildung 4.4:** Dargestellt ist die kardiale Pumpfunktion, gemessen in der linksventrikulären Verkürzungsfraction nach einem bzw. fünf Jahren Abstossungsfreiheit.

#### 4.7. KOMPLIKATIONEN OHNE AUSSETZEN DER STUDIEN MEDIKATION:

##### *Bakterielle Infektionen:*

In der Untersuchungsgruppe traten postoperativ insgesamt 13 Infektionen auf. Bei neun Patienten war in diesem Zusammenhang ein Krankenhausaufenthalt erforderlich. Vier Patienten hatten mehr als eine Infektion.

##### *CMV Infektion:*

Bei einem Patienten trat eine CMV Infektion drei Monate nach Transplantation auf.

##### *Perikardergüsse:*

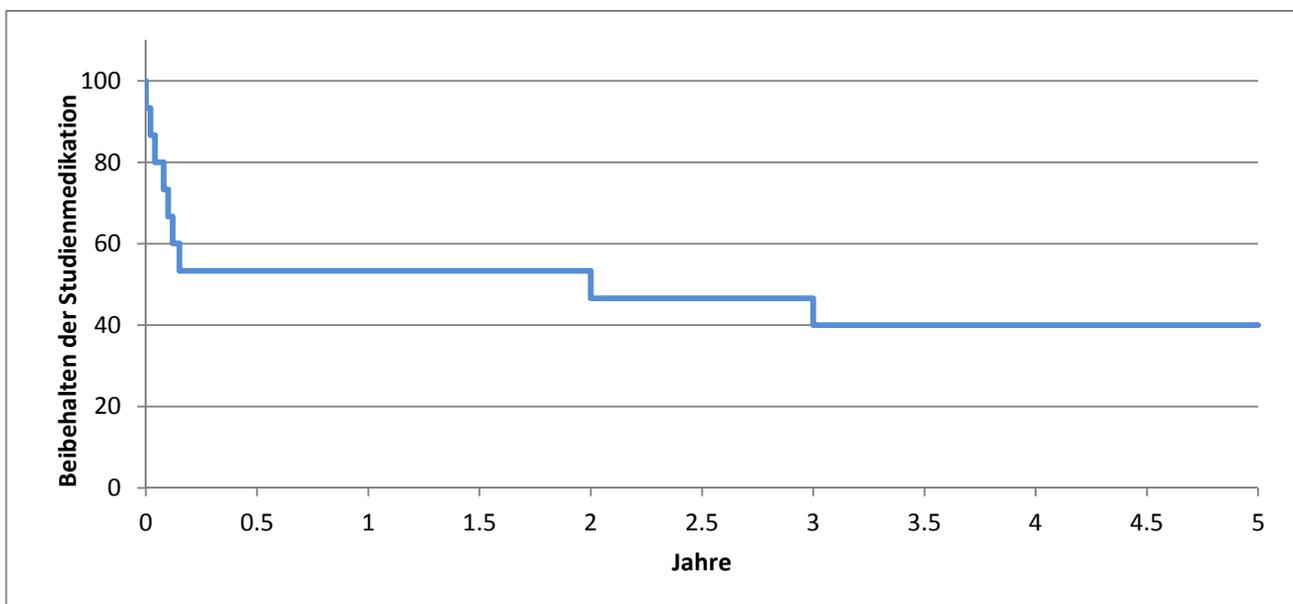
In unserer Studie wurde eine chirurgische Intervention wegen eines Perikardergusses bei 5 von 15 Patienten notwendig (33%).

##### *Generalisierte Ödeme, Anämie, Thrombosen, Pleuraergüsse:*

traten postoperativ als weitere Komplikationen ohne auffällige Häufung auf.

#### 4.8. KOMPLIKATIONEN MIT AUSSETZEN DER STUDIEN MEDIKATION

Ein Aussetzen der Studienmedikation wurde bei 9 der 15 Patienten (60%) durchgeführt, daraus resultierte eine zeitweilige Umstellung auf CNI-basierte Immunsuppression.



**Abbildung 4.5 :** Anteil an Patienten bei denen die Studienmedikation nicht unterbrochen wurde

Gründe für das zeitweise Aussetzen der Studienmedikation:

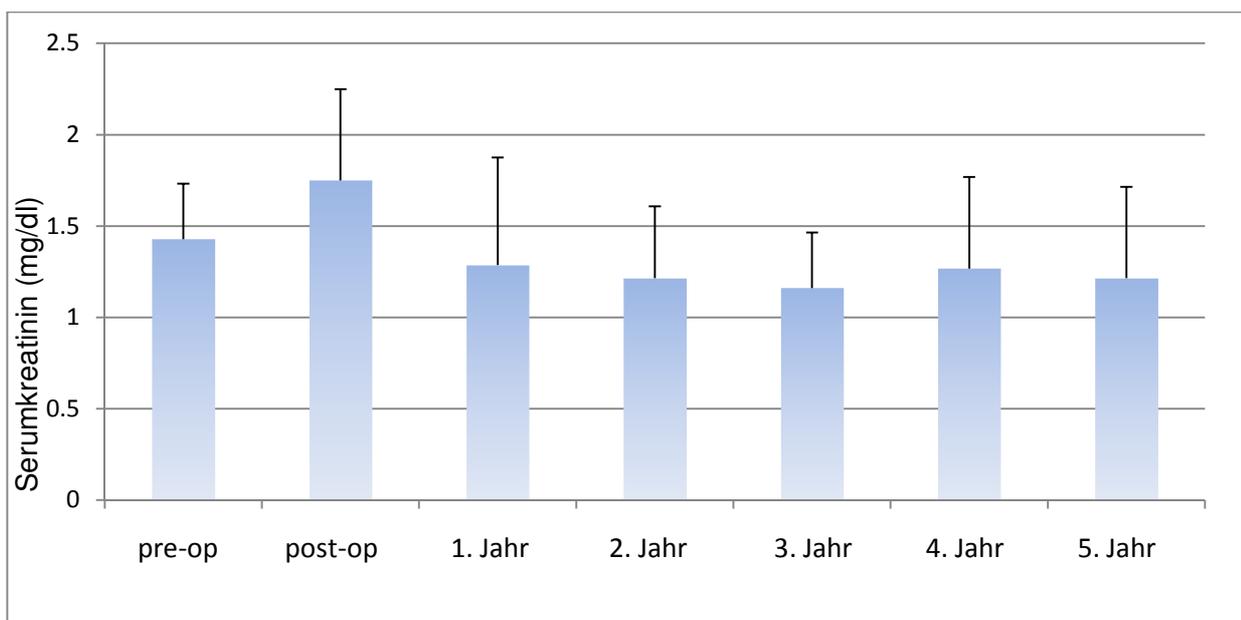
- akute Abstoßung (n=4)
- verzögerte Wundheilung (n=3)
- Ulcus ventriculi (n=1)
- Ulcus duodeni (n=1)

#### 4.9. NIERENFUNKTION

Über den Behandlungszeitraum konnte die Nierenfunktion bei allen Patienten erhalten und sogar durchaus verbessert werden. Der Serumkreatininspiegel lag vor der Transplantation bei  $1,43 \pm 0,3$  mg/dl. Ein Jahr nach Transplantation bei  $1,29 \pm 0,6$  mg/dl und fünf Jahre nach Transplantation:  $1,23 \pm 0,5$  mg/dl. Temporär war bei einem Patienten eine Hämodialyse notwendig.

	Serumkreatinin	Hämodialyse
<b>vor HTX</b>	$1,43 \pm 0,3$ mg/dl.	0
<b>1 Jahre nach HTX</b>	$1,29 \pm 0,6$ mg/dl	1 (temporär)
<b>5 Jahre nach HTX</b>	$1,23 \pm 0,5$ mg/dl	0

**Tabelle 4.1: Nierenfunktion:** Prä- und postoperative Serumkreatininwerte aller Patienten sowie die Anzahl an Patienten, bei denen im Untersuchungszeitraum eine Hämodialyse durchgeführt wurde.



**Abbildung 4.6:** Serumkreatininwerte waren über einen Zeitraum von 5 Jahren nach der Operation stabil

#### 4.10. LIPID- UND GLUCOSESTOFFWECHSEL

Die Cholesterinspiegel lagen vor der Transplantation bei  $172,7 \pm 45,1$  mg/dl, nach einem Jahr bei  $203,2 \pm 32,5$  mg/dl und nach fünf Jahren bei  $199,6 \pm 40,9$  mg/dl. Alle Patienten erhielten eine Therapie mit Statinen, in den meisten Fällen mittels Simvastatin.

	<b>Gesamtcholesterin</b>	<b>Triglyceride</b>	<b>Diabetes mellitus II</b>
<b>vor HTX</b>	$172,7 \pm 45,1$ (mg/dl)	$199,6 \pm 168,4$ (mg/dl)	n=6
<b>1 Jahre nach HTX</b>	$202,3 \pm 32,5$ (mg/dl)	-	n=6
<b>5 Jahre nach HTX</b>	$199,1 \pm 40,9$ mg/dl	$223,1 \pm 97,6$ mg/dl	n=6

**Tabelle 4.2:** Cholesterin sowie Triglyceridwerte aller Patienten zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten.

Die Hypertriglyceridämie persistierte jedoch mit Werten von  $199,6 \pm 168,4$  mg/dl präoperativ und Werten von  $223,1 \pm 97,6$  mg/dl nach fünf Jahren. In dem Beobachtungszeitraum von fünf Jahren trat kein neuer Diabetes mellitus auf, bei sechs Patienten bestand schon vor der OP ein Diabetes.

## 5. DISKUSSION

Seit Beginn der Herztransplantation wurden immer neue Therapieregime zur Aufrechterhaltung der Immunsuppression eingeführt. Die Therapie mit Calcineurininhibitoren brachte den entscheidenden Durchbruch hinsichtlich der Abstoßungsfreiheit. Erfreulicherweise überleben transplantierte Patienten immer länger, leiden daher aber auch immer mehr unter den Spätfolgen der Transplantation: den Nebenwirkungen der Immunsuppressiva (Aliabadi A 2012). Die Entwicklung einer spontanen Toleranz gegenüber dem Transplantat ist leider ein seltenes Phänomen und auch viele Jahre nach der Transplantation kann fast nie auf eine Immunsuppression verzichtet werden. Die notwendige Dosierung kann jedoch individuell sehr verschieden sein und, wie bereits beschrieben, stehen auch verschiedene Wirkstoffgruppen zur Auswahl. In Anbetracht dieser Tatsache ist zu überlegen wie man Patienten das beste Therapieregime „zu-matcht“. Nach Alter oder beispielsweise nach Risikofaktoren (Pawelec et al. 1999). Im Fokus der Entwicklung neuer Therapieregime steht insbesondere die Reduktion der Nephrotoxizität. Im Jahr 2005 berichteten Fernandez-Valls et al über eine calcineurininhibitorfreie Therapie von 26 Patienten bei denen eine signifikante Niereninsuffizienz bestand (Fernandez-Valls M. 2005). Bei sieben ihrer Patienten wurde die Therapie de novo durchgeführt, bei allen anderen war postoperativ eine konventionelle Therapie begonnen worden. Hinsichtlich der Nierenfunktion profitierten die Patienten der „de novo“ Gruppe deutlich häufiger als die restlichen Patienten. Allerdings traten ähnliche Nebenwirkungen wie in unserer Studie auf: gastrointestinale Probleme, Infektionen und eine Abstoßungsreaktion. Auch traten unter der notwendigen Dosierung Anämien und auch Fälle von interstitieller Pneumonitis auf.

Die Studie von Fernandez-Valls et al. an 26 Patienten gibt erste Hinweise zur Frage nach dem optimalen Zeitpunkt des Therapiebeginns mit mTOR-Inhibitoren; zu Beginn, gleich nach der Transplantation, oder erst, wenn schon ernste Komplikationen aufgetreten sind. Auch andere gravierende Nebenwirkungen der Immunsuppression stehen im Zusammenhang mit den verwendeten Wirkstoffen, so dass mTOR-Inhibitoren häufig erst eingesetzt werden, wenn schon Malignome entstanden sind (Flechner 2009). Auch dies wirft die Frage auf, ob Patienten von einem früheren Beginn, vor dem Auftreten von Neoplasien, von einer solchen Therapie profitieren würden.

Unsere Studie berichtet über die Langzeitergebnisse einer calcineurininhibitorfreien Immunsuppression direkt nach Herztransplantation. Die demographischen Daten zeigen, dass die in die Studie aufgenommenen Patienten repräsentativ für die in den letzten Jahren am Klinikum der Universität transplantierten Patienten sind und somit vergleichbar mit den Ergebnissen anderer

Immunsuppressionsregime. Die Therapie wurde mit Sirolimus und MMF bei frisch transplantierten Patienten durchgeführt. Aus dem ISHLT Register ist ersichtlich, dass ein Jahr nach HTX weltweit lediglich 1,2 % und auch fünf Jahre nach Transplantation nur 5,2% der Patienten eine CNI-freie Immunsuppression erhalten. In diesem Zusammenhang soll erneut darauf hingewiesen werden, dass die in unserer Studie untersuchten Patienten eine de novo CNI-freie Therapie, also direkt postoperativ beginnend, erhalten haben, und zu diesem neuen Konzept der Immunsuppression bisher noch fast keine Zahlen veröffentlicht wurden.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Therapie ohne Calcineurininhibitoren erfolgreich möglich ist. Sie sollen im Folgenden näher erläutert werden:

### **5.1. ÜBERLEBEN UND ABSTOSSUNGSREAKTIONEN**

In unserem Kollektiv waren nach einer 5-Jahres-Follow-up-Periode von 15 Patienten 14 am Leben was einer Überlebensrate von 87,5% entspricht. Die Fünf-Jahres-Überlebensrate nach Herztransplantation lag laut dem ISLHT Register 2013 bei 72,4% für erwachsene Patienten. Das Überleben in dem beobachteten Kollektiv ist daher tendenziell besser als im internationalen Vergleich, wenn auch statistisch noch nicht aussagekräftig.

Neben dem Überleben dient zur Beurteilung der Wirksamkeit der durchgeführten Therapie die Anzahl der beobachteten Abstoßungsreaktionen. Akute Abstoßungsreaktionen können zu schwerem Transplantatversagen führen. Cyclosporin A und Tacrolimus sind etablierte immunsuppressive Substanzen, die sehr wirksam bei der Verhinderung zellulärer Abstoßungsreaktionen sind. MMF und Sirolimus zeigen vorteilhafte Effekte bei der Verhinderung von TVP und zellulären Abstoßungsreaktionen, wenn sie mit CNIs kombiniert werden.

In unserer Studie wurde jedoch ein CNI freies Therapieprotokoll angewandt. Danach hatten nach 5 Jahren lediglich 40% der Patienten keine Abstoßungsreaktion. Zusätzlich mussten vier Patienten sicherheitshalber kurzzeitig auf CNI basierte Therapie umgestellt werden. Nach den akuten Abstoßungsreaktionen wurden die Patienten jedoch wieder auf Sirolimus eingestellt. Die Abstoßungsfreiheit bestätigte sich in den folgenden Biopsien.

Es gab mehr akute Abstoßungsreaktionen pro Patient, im Vergleich zu den Ergebnissen mit Tacrolimus-basierten Therapieregimen aus früheren Studien. Die aktuellen internationalen Vergleichswerte zu Häufigkeit von akuten Abstoßungen belaufen sich auf ca. 25% der Patienten bis zum Einjahres-Follow-up (ISLHT 2013), behandlungsbedürftige Abstoßungen werden sogar mit nur 14% für das erste Jahr beziffert.

Die höhere Rate an Abstoßungen wirft die Frage auf, ob im Falle einer CNI-freien Therapie eine intensivere und engmaschigere Nachsorge notwendig ist. In den von uns durchgeführten Nachsorgeuntersuchungen wurden alle aufgetretenen Abstoßungsreaktionen rechtzeitig diagnostiziert und alle Patienten konnten erfolgreich behandelt werden. Wir gehen davon aus, dass das an unserer Klinik durchgeführte engmaschige „follow up“ nach HTX auch für dieses Therapieregime geeignet ist. Der hohe Stellenwert der Patientencompliance hinsichtlich Nachsorge, Medikamenteneinnahme und Lebensstil sei in diesem Zusammenhang erwähnt.

## **5.2. NEBENWIRKUNGSPROFIL**

### ***Neoplasien***

Der ISHLT zufolge verursachen, 5 Jahre nach Herztransplantation, Malignome 25% der Todesfälle und sind so die häufigste Todesursache. Die Kanzerogenität der Immunsuppression hat somit einen sehr hohen Stellenwert hinsichtlich des Langzeitüberlebens. Aus den Transplantationsregistern geht hervor, dass die Kombination von mTOR-Inhibitoren mit Calcineurininhibitoren sowie auch eine Therapie mit mTOR-Inhibitor ohne Calcineurininhibitor mit einer niedrigeren Rate an Malignomen einher geht (Campistol, Flechner S. 2009). Dies gilt sowohl für die Zahl der Hautmalignome als auch für die Gesamtzahl an Neoplasien.

Wir erwarteten daher, dass die von uns durchgeführte Therapie ebenfalls mit einer geringen Anzahl an malignen Neubildungen einhergehen würde. Diese Hoffnung wurde bestätigt, da in unserer Studie keinen neuen Neoplasien auftraten. Leider starb ein Patient an einem schon vor der Transplantation unentdeckten pulmonalen Adenokarzinom. In vitro konnte nachgewiesen werden, dass mTor-Inhibitoren durch ihren anti-proliferativen und anti-angiogenetischen Effekt Tumorstadium reduzieren können (Campistol et al. 2008). Bei unserem Patienten hingegen verschlechterte sich der Gesundheitszustand rapide, trotz der bestehenden Sirolimus-Therapie.

### ***Transplantatvaskulopathie***

Die Transplantatvaskulopathie ist verbunden mit Intimaproliferation, sie reduziert den Durchmesser der Gefäße. Die TVP stellt langfristig den wichtigsten Grund für das Versagen des Transplantates dar. Sie führt damit zum Tode des Patienten oder zu einer erneuten Transplantation. Die Medikamente, MMF und Sirolimus, besitzen antiproliferative Wirkungen und können daher auch die Progression einer Transplantatvaskulopathie verhindern und unterdrücken. In unserer Kohorte wurde über einen Beobachtungszeitraum von 5 Jahren kein einziger Patient mit der Entwicklung einer Transplantatvaskulopathie beobachtet. Aus dieser Tatsache wiederum lässt sich eine gute Langzeitprognose, über den Beobachtungszeitraum hinaus, ableiten.

Insbesondere im Vergleich zur Häufigkeit von TVP, die im weltweiten ISLHT Register berichtet wird, ist die von uns beobachtete Häufigkeit bemerkenswert. Wie auch aus Abbildung 5.1 entnommen werden kann, wird weltweit nach einem Jahr bei ca. 8% nach fünf Jahren bereits bei 30% der Patienten eine solche Veränderung der Graftgefäße beobachtet.

### ***Pumpfunktion***

In unserem Kollektiv wurde nach einem und nach fünf Jahren im Mittel eine linksventrikuläre myokardiale Verkürzungsfraktion von ca. 40% gemessen. Diese Werte entsprechen Normalwerten von nicht-transplantierten Patienten. Streeter et al. zeigten in einer Untersuchung, dass transplantierte Patienten im Vergleich zu Patienten, die ihnen anhand eines ähnlichen Koronarbefundes zugematcht wurden, keine reduzierte rechts- oder linksventrikuläre Pumpfunktion aufweisen (Streeter et al 2005). Diese Studie wurde an Patienten durchgeführt, die eine Immunsuppressive Therapie mit Calcineurininhibitor erhalten hatten.

In manchen Untersuchungen zur Bedeutung der Pumpfunktion transplantierte Patienten konnte nachgewiesen werden, dass diese nicht mit schlechteren Überlebensraten verbunden ist (Radovancevic et al. 2003). Andere Autoren sehen eine gute Pumpfunktion jedoch als positiven unabhängigen Prediktor (Babir M 1997). Weiterhin lässt sich feststellen, dass die Pumpfunktion über den Beobachtungszeitraum stabil blieb. Eine Beeinflussung der Pumpfunktion durch eine mögliche voranschreitende Transplantatvaskulopathie konnte anhand der Biopsien ausgeschlossen werden. Auch wenn die geringe Größe des beobachteten Kollektivs Schlussfolgerungen zu diesem Zeitpunkt einschränkt, kann das von uns durchgeführte Therapieregime auch in Hinblick auf die kardiale Pumpfunktion positiv bewertet werden.

### ***Infektionen***

In der Untersuchungsgruppe traten postoperativ insgesamt 13 Infektionen auf. Bei neun Patienten war in diesem Zusammenhang ein Krankenhausaufenthalt erforderlich. Vier Patienten hatten mehr als eine Infektion.

Nachdem lediglich eine CMV Infektion in 5 Jahren auftrat, konnte in unserem Kollektiv die Rate an Infektionen durch die Einnahme von MMF und Sirolimus im Vergleich zu konventioneller Immunsuppression gesenkt werden. Dies bestätigt die Ergebnisse die von Eisen et al., Kobashigawa et al. oder Lehmkühl et al. publiziert wurden. Alle registrierten eine geringere Rate an CMV- Infektionen, wenn Sirolimus frühzeitig nach HTX eingenommen wurde.

## ***Perikardergüsse***

Perikardergüsse waren vor der Einführung von Cyclosporin als Komplikation nach HTX unbekannt (Hastillo et al. 1987). Daher wurde schon früh klar, dass ein Zusammenhang zwischen Immunsuppression und Perikardergüssen besteht. Perikardergüsse sind unter CNI Therapie ein häufiges Ereignis nach allogener orthotoper Herztransplantation (Al-Dadah et al. 2007). Ihr Ausmaß kann von klein, hämodynamisch irrelevant bis zu groß, hämodynamisch relevant und entlastungswürdig reichen. Um Perikardergüsse rechtzeitig festzustellen, müssen regelmäßige echokardiographische Untersuchungen durchgeführt werden.

Al-Dadah et al. untersuchten über einen Zeitraum von 3 Jahren das Auftreten und mögliche Gründe für Perikardergüsse bei herztransplantierten Patienten (Al-Dadah AS 2007). Bis auf eine lange Ischämiezeit des Spenderorgans konnte kein korrelierendes Ereignis gefunden werden. Es besteht keine Korrelation zwischen Auftreten von großen Perikardergüssen und erhöhter Morbidität. Wenn nicht chirurgisch entlastet werden muss, verschwinden die Perikardergüsse innerhalb von 3 Monaten nach Auftreten

Die Häufigkeit gibt Al-Dadah et al. bei CNI basierter Immunsuppression mit 35%, Quin et al. mit nur 20% an (Al-Dadah et al. 2007, Quin et al. 2002). Bouzas-Mosquera et al. berichtete mit 44% über eine signifikant höhere Rate an schwerwiegenden Perikardergüssen bei mTor-Inhibitor basierter Immunsuppression (Bouzas-Mosquera et al. 2008).

In unserer Studie war eine chirurgische Intervention aufgrund eines Perikardergusses bei fünf von fünfzehn Patienten notwendig (33%). Im Rahmen der Intervention kam es zu keinen weiteren negativen Ereignissen.

## ***Weitere Nebenwirkungen***

Thibodeau et al berichteten 2012 über eine erhöhte Rate von venösen Thrombembolien nach HTX während CNI-freier Immunsuppression (Thibodeau et al 2012 ). Sie konnten bei 67 untersuchten Patienten eine Rate von 12% feststellen. Auch in unserem Kollektiv traten venöse Thrombembolien auf. Eine statistische Aussage ließ sich aufgrund der geringen Patientenzahl nicht machen. Ebenso traten peripheren Ödemen, Anämien und Pleuraergüsse ohne auffällige Häufung postoperativ auf und können aufgrund deskleinen Kollektives nicht sinnvoll bewertet werden.

In drei Fällen wurde eine Konversion zu Calcineurininhibitoren nötig, da verzögerte Wundheilung auftrat, die eventuell auf den antiproliferativen Effekten von Sirolimus auf Fibroblasten beruht. In mehreren Studien wurde bereits deutlich, dass Sirolimus das Risiko für Wundheilungsstörungen

erhöht. (Arezu 2012, Kobashigawa 2006, Zakliczynski 2007). Dies scheint sich in den drei Fällen in unserem Patientenkollektiv widerzuspiegeln. Bei Patienten mit deutlich vorbestehendem Risiko für Wundheilungsstörung ist daher der Einsatz der mTor-Inhibitoren zu überdenken, da man von einer Summation der Risiken ausgehen muss.

Zwei Patienten mussten zwischenzeitlich aus der Studie genommen werden, da schwere gastrointestinale Nebenwirkungen auftraten. Auch diese Nebenwirkungen sind bekannt und mehrfach beschrieben. (Baur 2011, Bouzas-Mosquera 2008)

### ***Nierenfunktion***

Calcineurininhibitor basierte Immunsuppression führt in der Regel zu Nierenschäden. Die „International Society for Heart and Lung Transplantation“ zeigt, dass die Calcineurin vermittelte chronische Niereninsuffizienz bei 20% der Patienten in einem Zehn-Jahres-Zeitraum zu dialysepflichtigem Nierenversagen führt (ISLHT 2013). Lebensqualität und Lebenserwartung der Patienten sind stark eingeschränkt. Die chronische Nierenschädigung durch Calcineurininhibitoren ist irreversibel und die Nierenfunktion kann sich nur in geringem Maße erholen, wenn die CNIs abgesetzt werden. Sowohl MMF als auch Sirolimus haben keine nephrotoxischen Effekte und die Kombination beider verspricht einen Erhalt der Nierenfunktion über lange Zeit. In Kombination mit CNIS, jedoch, erhöht Sirolimus die Toxizität für eine Nierenschädigung. Die Nierenfunktion in unserer Kohorte blieb nicht nur stabil, sondern verbesserte sich auch leicht in dem Zeitraum der 5-Jahres Untersuchung. Während unsere Patienten nach fünf Jahren einen Mittelwert des Serumkreatinins von  $1,23 \pm 0,5$ mg/dl hatten, ist dieser im internationalen Vergleich bei 33% über 2,5 mg/dl (ISLHT2013). Es wurde keine dauerhafte Nierenersatztherapie erforderlich. Temporär war bei einem Patienten eine Hämodialyse notwendig, ein Ereignis das nach jeglichem herzchirurgischen Eingriff auftreten kann. Die Kombination von MMF und Sirolimus mit kompletter Vermeidung von CNIS scheint die Nierenfunktion zu erhalten und verbessert daher auch das Langzeitüberleben.

### ***Lipid- und Glucosestoffwechsel***

Der Anstieg der Cholesterin und Triglyzeridwerte spielt eine bedeutende Rolle in der Entwicklung und der Progression der Transplantatvaskulopathie. CNIS sind bekannt dafür, dass sie die Werte der Serumlipide erhöhen, wobei MMF keinen nachteiligen Effekt auf den Serumlipidstatus zeigt. Die Nebenwirkungen von Sirolimus hinsichtlich Hyperlipidämie sind gut untersucht (Merkel 2006). Trotz der Therapie mit Statinen blieben die Werte nach 5 Jahren erhöht. Ein normaler Lipidstatus erscheint unter der verabreichten Therapie schwierig erreichbar zu sein. Trotz der erhöhten Blutfette war jedoch, wie erwähnt, kein Fall von Transplantatvaskulopathie aufgetreten.

### **5.3. EINSCHRÄNKUNGEN DIESER STUDIE**

Diese Machbarkeitsstudie hat mehrere Einschränkungen, die sich durch die kleine Studiengruppe und die fehlende Kontrollgruppe begründen. Eine statistische Auswertung ist daher ebenfalls nur eingeschränkt durchführbar. Weiterhin war das Protokoll aus Sicherheitsgründen so ausgelegt, dass ein Therapiewechsel in vielen Fällen durchgeführt wurde.

### **5.4. FAZIT**

Die Studie zeigte, dass de novo Calcineurininhibitor-freie Immunsuppression nach Herztransplantation mit guten klinischen Ergebnissen möglich ist. Wenn man es mit Calcineurininhibitor basierter Immunsuppression vergleicht, sollten uns jedoch mehrere Dinge davor warnen diese Therapie als Standard nach Herztransplantation zu benutzen. Die Anzahl der Abstoßungen steht in dieser Hinsicht an erster Stelle. Andere Vorteile wie die Rate an Neoplasien müssen daher relativiert werden. In unserem Kollektiv war kein neues Malignom aufgetreten. Und trotzdem muss kritisch hinterfragt werden welchen Vorteil eine de novo calcineurininhibitor-freie Immunsuppression hinsichtlich der Krebsentstehung hat. In den ersten sechs Monaten ist das Auftreten einer Neoplasie äußerst selten während in dieser Zeit das Auftreten von Abstoßungsreaktionen hoch ist. Es ist gut möglich, dass unter diesem Aspekt eine initiale konservative Therapie mit einer Konversion nach einem halben Jahr sinnvoller ist.

Für Patienten, die beispielsweise ein beginnendes Nierenversagen haben, ist diese Immunsuppression jedoch direkt postoperativ ins Auge zu fassen. Unsere Daten zeigen einen außergewöhnlichen Effekt in Bezug auf das Auftreten der Transplantatvaskulopathie, dem Verlauf der Nierenfunktion und dem Auftreten von CMV- Infektionen, verglichen mit Patienten, die mit Calcineurininhibitoren behandelt wurden. Die Verbesserung der Nierenfunktion ist ermutigend für Patienten, die ein beginnendes Nierenversagen haben, ermutigend in der Hinsicht, dass ihre Nierenfunktion und Lebensqualität erhalten bleiben kann.

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

Systemische Immunsuppression nach Herztransplantation wurde in den letzten zwanzig Jahren fast ausschließlich unter Zuhilfenahme von Calcineurininhibitoren (CNI) wie Tacrolimus oder Ciclosporin A durchgeführt. Diese Medikamente besitzen jedoch ein erhebliches Nebenwirkungsprofil, und reduzieren insbesondere aufgrund ihrer Nephrotoxizität die Lebensqualität und Lebenserwartung der Patienten.

Mit Proliferations-Signal-Inhibitoren wie Sirolimus und Mycophenolat Mofetil (MMF) stehen jedoch auch Immunsuppressiva zu Verfügung die ein anderes Nebenwirkungsprofil besitzen. Frühere Studien, mit dem Versuch Therapieregime zu ändern, auf Calcineurininhibitoren zu verzichten und ausschließlich auf Sirolimus und MMF zu wechseln, brachten vielversprechende Ergebnisse in Bezug auf Abstoßungsfreiheit und Transplantatvaskulopathie. Die Nierenfunktion konnte durch den Therapiewechsel erhalten werden und eine fortschreitende Nierenschädigung sogar verhindert werden (Fenandez-Valls M.2005). Alle diese bisherigen Untersuchungen basierten jedoch auf Studienprotokollen, die ein spätes Absetzen der Calcineurininhibitoren vorsahen.

In dieser Studie wurden fünfzehn Patienten unmittelbar ab dem Zeitpunkt der orthotopen Herztransplantation mit einer Calcineurininhibitor freie Immunsuppression behandelt. Als Basisimmunsuppression erhielten die Patienten Sirolimus (Rapamune®, Wyeth Pharma, Münster) mit angestrebtem Plasmaspiegel zwischen 10 und 15ng/ml, MMF (Cellcept®, Roche Pharmaceuticals AG, Basel, Schweiz) mit angestrebtem Talspiegel zwischen 1,5 und 4 µg/ml, sowie Corticosteroide (Prednisolut®, Mibe GmbH, Sandersdorf-Brehna) mit einer Dosis von initial 1mg/kg/Tag auf 0,1mg/kg/Tag ausgeschlichen. Die Patienten wurden über einen Zeitraum von fünf Jahren nachuntersucht. Dabei wurde neben dem Überleben der Patienten unter anderem die Häufigkeit von Abstoßungsreaktionen, Transplantatvaskulopathie, Pumpfunktion des Grafts, Nierenfunktion sowie Lipid und Glucosestoffwechsel beobachtet.

Unsere Studie zeigte, dass de novo Calcineurininhibitor-freie Immunsuppression nach Herztransplantation mit guten klinischen Ergebnissen möglich ist, 14 der 15 in die Studie eingeschlossenen Patienten waren nach fünf Jahren am Leben. Die Anzahl der Abstoßungsreaktionen war jedoch höher als unter konventioneller Immunsuppression. In unserer Studie, mit komplett CNI freiem Therapieprotokoll, war nach fünf Jahren lediglich bei 40% der Patienten keine Abstoßungsreaktion aufgetreten.

Im Rahmen der Transplantatvaskulopathie kommt es nach Herztransplantation häufig zu einer Intimaproliferation und so zu einer Einengung der Gefäßdurchmesser. Die TVP stellt langfristig die

primäre Ursache für ein Transplantatversagen dar und führt so entweder zum Tode oder zu einer erneuten Transplantation. In unserer Kohorte wurde über einen Beobachtungszeitraum von 5 Jahren keine Transplantatvaskulopathie beobachtet. Die Serumtriglyceridspiegel waren trotz Therapie mittels Statinen erhöht.

Die chronische Nierenschädigung durch Calcineurininhibitoren ist irreversibel und die Nierenfunktion kann sich nur in geringem Maße erholen, wenn diese abgesetzt werden (Ojo AO, 2003). Sowohl MMF als auch Sirolimus haben keine nephrotoxischen Effekte und die Kombination beider verspricht einen Erhalt der Nierenfunktion über lange Zeit. Die Nierenfunktion in unserer Kohorte blieb nicht nur stabil, sondern verbesserte sich sogar leicht in dem Zeitraum der 5-Jahres Untersuchung. In keinem Fall wurde eine Nierenersatztherapie erforderlich. Die Kombination von MMF und Sirolimus mit kompletter Vermeidung von Calcineurininhibitoren scheint die Nierenfunktion zu erhalten und verbessert daher auch das Langzeit - Überleben.

Während die Nephrotoxizität vermieden werden konnte, traten aber häufig andere nachteilige Ereignisse auf. Chirurgische Interventionen aufgrund von Perikardergüssen wurden in 5 Fällen erforderlich. Auch Pleuraergüsse, periphere Ödeme und venöse Thrombosen wurden beobachtet. Zwei Patienten mussten zwischenzeitlich aus der Studie genommen werden, da schwere gastrointestinale Nebenwirkungen auftraten. In drei Fällen wurde eine Konversion zu Calcineurininhibitoren nötig, da verzögerte Wundheilung auftrat, die eventuell auf den antiproliferativen Effekten von Sirolimus auf Fibroblasten beruht.

Beim Vergleich mit Calcineurininhibitor basierter Immunsuppression, sollten uns mehrere Ergebnisse davor warnen, diese Therapie als Standard nach Herztransplantation zu verwenden. Allen voran die Anzahl der Abstoßungsreaktionen. Diese können schwerwiegende Folgen haben und schlimmstenfalls zu irreversiblen Transplantatversagen führen. Für Patienten, die beispielsweise ein beginnendes Nierenversagen haben, ist diese Immunsuppression jedoch ins Auge zu fassen.

Unsere Daten zeigen einen außergewöhnlichen Effekt in Bezug auf das Auftreten der Transplantatvaskulopathie, dem Verlauf der Nierenfunktion und dem Auftreten von Transplantatvaskulopathie, verglichen mit Patienten, die mit Calcineurininhibitoren behandelt wurden. Die Verbesserung der Nierenfunktion für Patienten, mit beginnendem Nierenversagen ist ermutigend, hinsichtlich Erhaltung von Nierenfunktion und damit Lebensqualität nach Herztransplantation

## 7. LITERATURVERZEICHNIS

Abou-Jaoude MM, Najm R, Shaheen J, Nawfal N, Abboud S, Alhabash M, Darwish M, Mulhem A, Ojjeh A, Almawi WY. Tacrolimus (FK506) versus cyclosporine microemulsion (neoral) as maintenance immunosuppression therapy in kidney transplant recipients. *Transplant Proc.* 2005 Sep;37(7):3025-8

Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman: *Cellular and Molecular Immunology*. Saunders (W.B.) Company, Philadelphia 2005

Al-Dadah AS, Guthrie TJ, Pasque MK, Moon MR, Ewald GA, Moazami N. Clinical course and predictors of pericardial effusion following cardiac transplantation. *Transplant Proc.* 2007 Jun;39(5):1589-92

Aliabadi A, Cochrane AB, Zuckermann AO. Current strategies and future trends in immunosuppression after heart transplantation. *Curr Opin Organ Transplant.* 2012 Oct;17(5):540-5

Allison AC, Eugui EM. Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action. *Immunopharmacology.* 2000; 47 (2-3): 85-118.

Allison AC, Eugui EM. Preferential suppression of lymphocyte proliferation by mycophenolic acid and predicted long-term effects of mycophenolate mofetil in transplantation. *Transplant Proc.* 1994; 26 (6): 3205-10.

Allison AC, Eugui EM. Purine metabolism and immunosuppressive effects of mycophenolate mofetil (MMF). *Clin Transplant.* 1996; 10: 77-84.

Allison, AC.: Immunosuppressive drugs: the first 50 years and a glance forward. *Immunopharmacology.* 2000; 47: 63.

Aparicio G, Calvo MB, Medina V, Fernández O, Jiménez P, Lema M, Figueroa A, Antón Aparicio LM. Comprehensive lung injury pathology induced by mTOR inhibitors. *Clin Transl Oncol.* 2009 Aug;11(8):499-510

Azuma H, Tilney NL. Immune and nonimmune mechanisms of chronic rejection of kidney allografts. *J Heart Lung Transplant.* 1995 Nov-Dec;14(6 Pt 2):S136-42.

Babir M., Lazem F., Banner N., Mitchell A., Yacoub M. The prognostic significance of non-invasive cardiac tests in heart transplant recipients. *Eur Heart J* 1997;18:692-696.

Barnard CN. The operation. A human cardiac transplant: an interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town. *S Afr Med J.* 1967; 41 (48): 1271-4.

Batts KP. Acute and chronic hepatic allograft rejection: pathology and classification. *Liver Transpl Surg.* 1999 Jul;5(4 Suppl 1):S21-9.

Baur B, Oroszlan M, Hess O, Carrel T, Mohacsi P. Efficacy and safety of sirolimus and everolimus in heart transplant patients: a retrospective analysis. *Transplant Proc.* 2011 Jun;43(5):1853-61.

Bouzas-Mosquera A, Crespo-Leiro MG, Paniagua MJ, Naya C, Grille Z, Marzoa R, Barge-Caballero E, Estévez-Cid F, Alvarez-García N, Cuenca JJ, Castro-Beiras A. Adverse effects of mammalian target of rapamycin inhibitors during the postoperative period after cardiac transplantation. *Transplant Proc.* 2008 Nov;40(9):3027-30

Campara M, Tzvetanov IG, Oberholzer J. Interleukin-2 receptor blockade with humanized monoclonal antibody for solid organ transplantation. *Expert Opin Biol Ther.* 2010 Jun;10(6):959-69.

Campistol JM. Minimizing the risk of posttransplant malignancy. *Transplantation.* 2009 Apr 27;87(8 Suppl)

Chhajed PN, Dickenmann M, Bubendorf L, Mayr M, Steiger J, Tamm M (2006). Patterns of pulmonary complications associated with sirolimus. *Respiration* 73 (3): 367–74.

Das BB, Shoemaker L, Subramanian S, Johnsrude C, Recto M, Austin EH (March 2007). "Acute sirolimus pulmonary toxicity in an infant heart transplant recipient: case report and literature review". *J. Heart Lung Transplant.* 26 (3): 296–8.

Dresske B, Zhu X, Herwartz C, et al. The time pattern of organ infiltration and distribution of natural killer cells and macrophages in the course of acute graft rejection after allogeneic heart transplantation in the rat. *Transplant Proc.* 1997;29:1715.

elgado JF, Torres J, José Ruiz-Cano M, Sánchez V, Escribano P, Borruel S, María Cortina J, de la Calzada CS. Sirolimus-associated interstitial pneumonitis in 3 heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant*. 2006 Sep;25(9):1171-4

Erdmann E. *Klinische Kardiologie: Krankheiten des Herzens, des Kreislaufs und der herznahen Gefäße*. Berlin; Heidelberg; New York; Barcelona; Hongkong; London; Mailand; Paris; Singapur; Tokio: Springer-Verlag, 2000

Errasti P, Izquierdo D, Martín P, Errasti M, Slon F, Romero A, Lavilla FJ. Pneumonitis associated with mammalian target of rapamycin inhibitors in renal transplant recipients: a single-center experience. *Transplant Proc*. 2010 Oct;42(8):3053-4.

Fernandez-Valls M, Gonzalez-Vilchez F, de Prada JA, Ruano J, Ruisanchez C, Martin-Duran R. Sirolimus as an alternative to anticalcineurin therapy in heart transplantation: experience of a single center. *Transplant Proc*. 2005 Nov;37(9):4021-3

Filippone EJ, Carson JM, Beckford RA, Jaffe BC, Newman E, Awsare BK, Doria C, Farber JL, Sirolimus-induced pneumonitis complicated by pentamidine-induced phospholipidosis in a renal transplant recipient: a case report. *Transplant Proc*. 2011 Sep;43(7):2792-7

Franklin TJ, Cook JM. The inhibition of nucleic acid synthesis by mycophenolic acid. *Biochem J*. 1969; 113(3): 515-24.

Gonzalez-Vilchez F, Vazquez de Prada JA, Paniagua MJ, Gomez-Bueno M, Arizon JM, Almenar L, Roig E, Delgado J, Lambert JL, Perez-Villa F, Sanz-Julve ML, Crespo-Leiro M, Segovia J, Lopez-Granados A, Martinez-Dolz L, Mirabet S, Escribano P, Diaz-Molina B, Farrero M, Blasco T. Use of mTOR inhibitors in chronic heart transplant recipients with renal failure: Calcineurin-inhibitors conversion or minimization? *Int J Cardiol*. 2014 Jan 15;171(1):15-23.

Gosio B. Recherche batteriologiche e chimiche sulle alterazioni di Mais. *Riv D'Igiene Sanita Pub Ann*. 1896; 7: 825-68.

Grimm M, Rinaldi M, Yonan NA, et al. Superior prevention of acute rejection by tacrolimus vs. cyclosporine in heart transplant recipients: a large European trial. *Am J Transplant* 2006; 6:1387–1397.

Hastillo A, Thompson JA, Lower RR, Szentpetery S, Hess ML. Cyclosporine-induced pericardial effusion after cardiac transplantation. *Am J Cardiol*. 1987 May 1;59(12):1220-2

Häyry P, Mennander A, Yilmaz S, Ustinov J, Räisänen A, Lautenschlager I, Lemström K, Bruggeman CA, Paavonen T. Cellular and molecular mechanisms in allograft arteriosclerosis. *Transplant Proc.* 1992 Dec;24(6):2359-61

Häyry P, Mennander A, Yilmaz S, Ustinov J, Räisänen A, Miettinen A, Lautenschlager I, Lemström K, Bruggeman CA, Paavonen T. Towards understanding the pathophysiology of chronic rejection. *Clin Investig.* 1992 Sep;70(9):780-90

Hench PS, Kendall EC, et al. The effect of a hormone of the adrenal cortex (17-hydroxy-11-dehydrocorticosterone; compound E) and of pituitary adrenocorticotrophic hormone on rheumatoid arthritis. *Proc Staff Meet Mayo Clin.* 1949 Apr 13;24(8):181-97

Iwatsuki S, Starzl TE, Todo S, Gordon RD, Esquivel CO, Tzakis AG, Makowka L, Marsh JW, Koneru B, Stieber A, et al. Experience in 1,000 liver transplants under cyclosporine-steroid therapy: a survival report. *Transplant Proc.* 1988 Feb;20(1 Suppl 1):498-504.

Kaczmarek I, Deutsch MA, Sadoni S. Successful management of antibody-mediated cardiac allograft rejection with combined immunoadsorption and anti-CD20 monoclonal antibody treatment: case report and literature review. *J Heart Lung Transplant.* 2007;8(5):511–515

Kaczorowski DJ, Datta J, Kamoun M, Dries DL, Woo YJ. Profound hyperacute cardiac allograft rejection rescue with biventricular mechanical circulatory support and plasmapheresis, intravenous immunoglobulin, and rituximab therapy. *J Cardiothorac Surg.* 2013 Mar 16;8:48.

Kapturczak MH, Meier-Kriesche HU, Kaplan B. Pharmacology of calcineurin antagonists. *Transplant Proc.* 2004; 36(Suppl 2): S25-S32.

Keogh A. Calcineurin inhibitors in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2004 May;23(5 Suppl):S202-6

Kino T, Goto T. Discovery of FK-506 and update. *Ann N Y Acad Sci.* 1993 Jun 23;685:13-21.

Kino T, Hatanaka H, Hashimoto M, Nishiyama M, Goto T, Okuhara M, Kohsaka M, Aoki H, Imanaka H. FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a *Streptomyces*. I. Fermentation, isolation, and physico-chemical and biological characteristics. *J Antibiot (Tokyo).* 1987 Sep;40(9):1249-55.

Kobashigawa JA, Miller LW, Russell SD, et al. Tacrolimus with mycophenolate mofetil (MMF) or sirolimus vs. cyclosporine with MMF in cardiac transplant patients: 1-year report. *Am J Transplant* 2006; 6:1377–1386.

Lamming DW, Ye L, Katajisto P, Goncalves MD, Saitoh M, Stevens DM, Davis JG, Salmon AB, Richardson A, Ahima RS, Guertin DA, Sabatini DM, Baur JA. Rapamycin-induced insulin resistance is mediated by mTORC2 loss and uncoupled from longevity. *Science*. 2012 Mar 30;335(6076):1638-43.

Land WG: Immunsuppressive Therapie: Konventionelle immunsuppressive Medikamente – Calcineurin-hemmende Medikamente – Polyklonale und monoklonaler Anti-Pan-T-Zell-Antikörper. Band 2. Georg Thieme Verlag. Stuttgart, New York. 2005.

Lindenfeld J, Miller GG, Shakar SF, Zolty R, Lowes BD, Wolfel EE, Mestroni L, Page RL 2nd, Kobashigawa J. Drug therapy in the heart transplant recipient: part I: cardiac rejection and immunosuppressive drugs. *Circulation*. 2004 Dec 14;110(24):3734-40

Liu J, Farmer JD Jr, Lane WS, Friedman J, Weissman I, Schreiber SL. Calcineurin is a common target of cyclophilin-cyclosporin A and FKBP-FK506 complexes. *Cell*. 1991 Aug 23;66(4):807-15

Maroto JP, Hudes G, Dutcher JP, Logan TF, White CS, Krygowski M, Cincotta M, Shapiro M, Duran I, Berkenblit A. Drug-related pneumonitis in patients with advanced renal cell carcinoma treated with temsirolimus. *J Clin Oncol*. 2011 May 1;29(13):1750-6

McCormack PL, Keating GM. Tacrolimus: in heart transplant recipients. *Drugs*. 2006;66(17):2269-79; discussion 2280-2

McWilliams TJ, Levvey BJ, Russell PA, Milne DG, Snell GI. Interstitial pneumonitis associated with sirolimus: a dilemma for lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2003 Feb;22(2):210-3

Merkel S, Mogilevskaja N, Mengel M, Haller H, Schwarz A, Side Effects of Sirolimus, Transplantation Proceedings, Volume 38, Issue 3, April 2006, 714-715

Michaels PJ, Espejo ML, Kobashigawa J, Alejos JC, Burch C, Takemoto S, Reed EF, Fishbein MC. Humoral rejection in cardiac transplantation: risk factors, hemodynamic consequences and relationship to transplant coronary artery disease. *J Heart Lung Transplant*. 2003 Jan;22(1):58-69.

Mingos MA, Kane GC. Sirolimus-induced interstitial pneumonitis in a renal transplant patient. *Respir Care*. 2005 Dec;50(12):1659-61

Morelon E, Stern M, Israël-Biet D, Correas JM, Danel C, Mamzer-Bruneel MF, Peraldi MN, Kreis H. Characteristics of sirolimus-associated interstitial pneumonitis in renal transplant patients. *Transplantation*. 2001 Sep 15;72(5):787-90

Naesens M, Kuypers DR, Sarwal M. Calcineurin inhibitor nephrotoxicity. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009 Feb;4(2):481-508

Nwakanma LU, Williams JA, Weiss ES, Russell SD, Baumgartner WA, Conte JV. Influence of pretransplant panel-reactive antibody on outcomes in 8,160 heart transplant recipients in recent era. *Ann Thorac Surg*. 2007

O'Donnell MM, Williams JP, Weinrieb R, Denysenko L. Catatonic mutism after liver transplant rapidly reversed with lorazepam. *Gen Hosp Psychiatry* 2007; 29 (3): 280-1.

Paris A, Goupil F, Kernaonet E, Foulet-Rogé A, Molinier O, Gagnadoux F, Lebas FX. [Drug-induced pneumonitis due to sirolimus: an interaction with atorvastatin?]. *Rev Mal Respir*. 2012 Jan;29(1):64-9

Pawelec G. Immunosenescence: impact in the young as well as the old? *Mech Ageing Dev* 1999; 108:1–7.

Pham PT, Pham PC, Danovitch GM, Ross DJ, Gritsch HA, Kendrick EA, Singer J, Shah T, Wilkinson AH, Sirolimus-associated pulmonary toxicity. *Transplantation*. 2004 Apr 27;77(8):1215-20

Ponticelli C. The pros and the cons of mTOR inhibitors in kidney transplantation. *Expert Rev Clin Immunol*. 2014 Feb;10(2):295-305.

Pritchard DI. Sourcing a chemical succession for cyclosporin from parasites and human pathogens. *Drug Discov Today*. 2005 May 15;10(10):688-91.

Pritchard DI. Sourcing a chemical succession for cyclosporin from parasites and human pathogens. *Drug Discov Today*. 2005 May 15;10(10):688-91

Quin JA, Tauriainen MP, Huber LM, McIntire DD, Kaiser PA, Ring WS, Jessen ME. Predictors of pericardial effusion after orthotopic heart transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2002 Nov;124(5):979-83

Radovancevic B, Radovancevic R, Vrtovec B, Thomas CD, Frazier OH, Outcomes in patients with low left ventricular ejection fraction after heart transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2003 May;23(5):743-7.)

Rote Hand Brief zu CellCept ,12.November2007

Rote Hand Brief zu CellCept,18.Februar 2008

Saito S, Matsumiya G, Fukushima N. Successful treatment of cardiogenic shock caused by humoral cardiac allograft rejection. *Circ J.* 2009;8(5):970–973.

Saunders RN, Metcalfe MS, Nicholson ML. Rapamycin in transplantation: a review of the evidence. *Kidney Int.* 2001 Jan;59(1):3-16

Schmauss D, Weis M. Cardiac allograft vasculopathy: Recent developments. *Circulation* 2008; 117: 2131 – 2141.

Sollinger HW. From mice to man: the preclinical history of mycophenolat mofetil. *Clin Transplantation.* 1996; 10 (1 Pt 2):85-92.

Starzl TE, Klintmalm GB, Porter KA, Iwatsuki S, Schröter GP. Liver transplantation with use of cyclosporin a and prednisone. *N Engl J Med.* 1981 Jul 30;305(5):266-9

Stehlik J, Edwards LB, Kucheryavaya AY, et al. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-eighth adult heart transplant report-2011. *J Heart Lung Transplant* 2011; 30:1078–1079.

Streeter RP, Nichols K, Bergmann SR. Stability of right and left ventricular ejection fractions and volumes after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2005 Jul;24(7):815-8.

Suzuki J, Isobe M, Morishita R, Nagai R. Characteristics of chronic rejection in heart transplantation: important elements of pathogenesis and future treatments. *Circ J.* 2010 Feb;74(2):233-9. Epub 2009 Dec 14.

Taylor DO, Edwards LB, Boucek MM, et al. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Twenty-third official adult heart transplantation report-2006. *J Heart Lung Transplant.*

Thibodeau JT, Mishkin JD, Patel PC, Kaiser PA, Ayers CR, Mammen PP, Markham DW, Ring WS, Peltz M, Drazner MH. Tolerability of sirolimus: a decade of experience at a single cardiac transplant center. *Clin Transplant*. 2013 Nov-Dec;27(6):945-52.

Toutouzas K, Di Mario C, Falotico R, Takagi T, Stankovic G, Albiero R, Corvaja N, Colombo A. Sirolimus-eluting stents: a review of experimental and clinical findings. *Z Kardiol*. 2002;91 Suppl 3:49-57.

Vézina C, Kudelski A, Sehgal SN. Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. I. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle. *J Antibiot (Tokyo)*. 1975 Oct;28(10):721-6

Walch JM, Lakkis FG. T-cell migration to vascularized organ allografts. *Curr Opin Organ Transplant*. 2014 Feb;19(1):28-32

Weil R 3rd, Clarke DR, Iwaki Y, Porter KA, Koep LJ, Paton BC, Terasaki PI, Starzl TE. Hyperacute rejection of a transplanted human heart. *Transplantation*. 1981 Jul;32(1):71-2.

Zakliczynski M, Nozynski J, Kocher A, Lizak MK, Zakliczynska H, Przybylski R, Wojarski J, Zembala M. Surgical wound-healing complications in heart transplant recipients treated with rapamycin. *Wound Repair Regen*. 2007 May-Jun;15(3):316-21

## **8. DANKSAGUNG**

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich während der Erstellung der Dissertation unterstützten und somit zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Mein Dank gebührt meinem Doktorvater Herrn PD. Dr. Ingo Kaczmarek, für die Überlassung des Themas und die exzellente Betreuung. Zudem möchte ich mich bei Herrn Dr. Jan-Michael Abicht für seine Geduld und Unterstützung bedanken. Der größte Dank aber geht an meine Eltern, die mir das Studium erst ermöglichten und mich jederzeit unterstützten.

## 9. EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG

### Eidesstattliche Versicherung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema: „De novo Calcineurin-Inhibitor-freie Immunsuppression bei Patienten nach Herztransplantation“ selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 16.10.2014

-----  
Ricarda Reimann