

Aus der Abteilung für Thoraxchirurgie

der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. med. Rudolf A. Hatz

**Die klinische Relevanz von persistierenden de novo donorspezifischen HLA-Antikörpern auf die Transplantatfunktion und das Überleben bei Patienten vor und nach einer Lungentransplantation**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Anna Magdalena Schmitzer

aus

Zwiesel

2020

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Hauke Winter

Mitberichterstatter: PD Dr. med. Markus Albertsmeier

PD Dr. med. Sandra Frank

Mitbetreuung durch den

promovierten Mitarbeiter: PD Dr. med. Teresa Kauke

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 30.01.2020

**Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:**

**Kongressbeiträge:**

**M. Schmitzer**, N. Kneidinger, A. Dick, C. Neurohr, V. von Dossow, R. Schramm, H. Winter, T. Kauke: Persistierende de novo HLA- Antikörper scheinen das Risiko für chronisches Transplantatversagen bei Lungentransplantationen zu erhöhen, 93. Jahrestagung der Vereinigung der Bayerischen Chirurgen e.V., 20.-22.7.2016, München

**T. Kauke, M. Schmitzer**, N. Kneidinger, R. Schramm, R. Hatz, G. Preissler, V. von Dossow, T. Weig, H. Winter: Persistierende de novo donorspezifische HLA-Antikörper sind nach Lungentransplantation mit einem erhöhten Risiko für ein Transplantatversagen verbunden, 26. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Thoraxchirurgie, 19.-20.10.2017, München

**M. Schmitzer**, N. Kneidinger, A. Dick, C. Neurohr, V. von Dossow, R. Schramm, H. Winter, T. Kauke: Persistence of de novo donorspecific HLA-antibodies increases the risk of lung allograft dysfunction, 8.-10.9.2016, 20. Chirurgische Forschungstage, Magdeburg

**T. Kauke, M. Schmitzer**, N. Kneidinger, C. Neurohr, V. Von Dossow, G. Preissler, R. Schramm, H. Winter: Persistence of de novo donorspecific HLA-antibodies increases the risk of lung allograft dysfunction, 12<sup>th</sup> International Congress on Lung Transplantation, 15.-16.9.2016, Paris

**M. Schmitzer**, N. Kneidinger, A. Dick, C. Neurohr, V. von Dossow, R. Schramm, H. Winter, **T. Kauke**: Persistence of de novo donorspecific HLA-antibodies increases the risk of lung allograft dysfunction, 25. Jahrestagung der Deutschen Transplantationsgesellschaft, 5.-8.10.2016, Essen

**M. Schmitzer**, N. Kneidinger, C. Neurohr, R. Hatz , R. Schramm, V. von Dossow , H. Winter, **T. Kauke**: Persistence of de novo donorspecific HLA-antibodies seems to increase the risk of lung allograft dysfunction, 49. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie (DGTI) und 24. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Immungenetik e.V. (DGI), 7.-10.9.2016, Nürnberg

Abstract Veröffentlichung:

T. Kauke, **M. Schmitzer**, N. Kneidinger, R. Schramm, R. Hatz, G. Preissler, V. von Dossow, T. Weig, H. Winter: Persistierende de novo donorspezifische HLA-Antikörper sind nach Lungentransplantation mit einem erhöhten Risiko für ein Transplantatversagen verbunden, Zentralblatt für Chirurgie, 2017. 142(S 01): p. V 275.

Veröffentlichung in einer Fachzeitschrift:

**Schmitzer, M.**, Winter, H. Kneidinger, N. Meimarakis, G. Dick, A. Schramm, R. Klotz, L. V. Preissler, G. Strobl, N. von Dossow, V. Schneider, C. Weig, T. Hatz, R. Kauke, T. et al., Persistence of de novo donor specific HLA-Antibodies after lung transplantation: a potential marker of decreased patient survival. Hla, 2018;92:24-32

## **INHALTSVERZEICHNIS**

ABBILDUNGSVERZEICHNIS-----	9
TABELLENVERZEICHNIS-----	11
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS -----	13
1. EINLEITUNG-----	16
1.1. Einführung-----	16
1.2. Die Lungentransplantation -----	16
1.2.1. Geschichte-----	16
1.2.2. Transplantationsverfahren und Indikation-----	17
1.2.3. Warteliste und Vergabe von Spenderorganen-----	18
1.2.4. Immunsuppression und Infektionsprophylaxe -----	19
1.2.5. Komplikationen -----	20
1.2.6. Chronische Transplantatdysfunktion -----	20
1.2.7. Akute zelluläre Abstoßung -----	22
1.2.8. Outcome und Überleben -----	23
1.3. Das HLA-System und donorspezifische HLA-Antikörper -----	23
1.3.1. Das HLA-System-----	23
1.3.2. Methoden der HLA-Typisierung und des HLA-Antikörper Screenings -----	25
1.3.3. Bedeutung von donorspezifischen HLA-Antikörpern bei Lungentransplantationen -----	26

1.4.	Zusammenfassung und Fragestellung -----	27
2.	PATIENTEN UND METHODEN-----	29
2.1.	Studiendesign und Studiendurchführung-----	29
2.2.	Zeitlicher Ablauf der Studie-----	30
2.3.	Patientendemographie-----	32
2.4.	HLA-Typisierung und Screening-----	33
2.4.1.	Kreuzprobe-----	33
2.4.2.	HLA-Antikörper Screening-----	33
2.4.3.	HLA-Typisierung -----	36
2.5.	Präemptive CMV-Therapie -----	36
2.6.	Definition und Therapie von akuten zellulären Abstoßungen-----	37
2.7.	Therapeutische Konsequenzen bei Nachweis von DSA -----	38
2.8.	Immunsuppressives Regime -----	38
2.9.	Monitoring der Transplantatfunktion -----	39
2.9.1.	Definition von BOS und CLAD -----	40
2.9.2.	6-Minuten Gehtest -----	41
2.10.	Statistische Analyse -----	41
3.	ERGEBNISSE -----	43
3.1.	Gesamtkollektiv-----	43
3.1.1.	Statistischer Vergleich zwischen den Patientengruppen -----	46

3.2. HLA-Antikörper -----	50
3.2.1. Präformierte HLA-Antikörper-----	50
3.2.2. HLA-Antikörper nach der Transplantation-----	53
3.3. Perioperative Daten-----	58
3.3.1. Ischämiezeit und Einsatz der ECMO-----	58
3.3.2. Horowitz Index und Transfusionen-----	58
3.3.3. Beatmungszeit, Liegezeit auf der Intensivstation und stationäre Behandlungsdauer-----	59
3.4. CMV-Mismatch, CMV-Infektion, akute Abstoßung und Immunsuppression-----	64
3.4.1. CMV-Mismatch -----	64
3.4.2. CMV-Diagnostik und Verlaufsbeobachtung -----	65
3.4.3. Akute zelluläre Abstoßung -----	66
3.4.4. Immunsuppressive Therapie-----	66
3.5. Lungenfunktion -----	67
3.5.1. Vergleich der FEV1-----	67
3.5.2. Vitalkapazität-----	72
3.6. 6-Minuten Gehtest nach dem Rehabilitationsaufenthalt -----	72
3.7. Bronchiolitis obliterans Syndrom -----	73
3.8. Überleben -----	77
3.8.1. DSA und Überleben -----	77
3.8.2. Todesursachen -----	80

3.9.	Übersicht über alle Patienten mit de novo DSA-----	81
4.	DISKUSSION -----	85
4.1.	Zusammenfassung der Ergebnisse -----	85
4.2.	Diskussion der Methoden-----	85
4.3.	Diskussion der Ergebnisse-----	86
5.	ZUSAMMENFASSUNG -----	99
6.	LITERATURVERZEICHNIS-----	101
7.	DANKSAGUNG -----	112

## **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: CLAD als Überbegriff verschiedener Ausprägungen einer chronischen Transplantatdysfunktion wie BOS und RAS .....	22
Abbildung 2: Luminex HLA-Antikörper Screening .....	35
Abbildung 3: Altersverteilung der Patienten .....	44
Abbildung 4: Verteilung der zugrundeliegenden Diagnosen im Gesamtkollektiv .....	45
Abbildung 5: Flow-Chart der Studienpopulation .....	50
Abbildung 6: HLA-Spezifitäten der präformierten Antikörper.....	51
Abbildung 7: HLA-Klassen der DSA gesamt und innerhalb der transienten und persistierenden DSA .....	54
Abbildung 8: Anteil der de novo nDSA bei DSA positiven und negativen Patienten .....	55
Abbildung 9: Vergleich der MFI-Werte zwischen transienten und persistierenden DSA ..	56
Abbildung 10: Zeit bis zum ersten Nachweis von DSA bei den Patienten mit transienten und persistierenden DSA im Vergleich.....	57
Abbildung 11: Vergleich der Beatmungsdauer in Tagen der DSA negativen und positiven Patienten .....	61
Abbildung 12: Vergleich der Liegezeit auf der Intensivstation in Tagen der DSA negativen und positiven Patienten.....	61
Abbildung 13: CMV-Konstellation von Empfänger und Spender .....	64
Abbildung 14: FEV1 (Istwert in Prozent vom Sollwert) bei DSA negativen und positiven Patienten sowie bei Patienten mit transienten und persistierenden DSA ein Monat, 3, 6 und 12 Monate nach der Transplantation .....	68

Abbildung 15: Entwicklung der FEV1 (Istwert in Prozent vom Sollwert) im Vergleich zum letzten präoperativen Wert bei DSA negativen und positiven Patienten und bei Patienten mit transienten und persistierenden DSA ein Monat, 3, 6 und 12 Monate nach der Transplantation .....	69
Abbildung 16: Entwicklung der FEV1 (Istwert in Prozent vom Sollwert) und Vitakapazität (Istwert in Prozent vom Sollwert) im Vergleich zum letzten präoperativen Wert bei Patienten ohne HLA-Antikörper und Patienten mit persistierenden DSA .....	71
Abbildung 17: Verbesserung der Gehstrecke im 6-Minuten Gehtest zu Beginn und am Ende des Rehabilitationsaufenthaltes 3 Monate nach der Transplantation bei DSA negativen und positiven Patienten sowie bei Patienten mit transienten und persistierenden DSA .....	73
Abbildung 18: Verteilung der BOS-Stadien im gesamten Kollektiv .....	74
Abbildung 19: Überlebenszeitanalyse nach Transplantation bei Patienten mit BOS und ohne BOS .....	76
Abbildung 20: 1-Jahres- und Gesamtüberlebensrate (innerhalb der Nachbeobachtungszeit) aller Patienten, der DSA negativen und positiven Patienten sowie der Patienten mit transienten und persistierenden DSA .....	78
Abbildung 21: Vergleich der Überlebenszeit zwischen Patienten ohne DSA, mit transienten und mit persistierenden DSA .....	79

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Zeitlicher Ablauf und Untersuchungsparameter der Studie .....	31
Tabelle 2: Einteilung der akuten Abstoßung A gemäß der Kriterien der Lung Rejection Study Group.....	37
Tabelle 3: Einteilung der akuten Abstoßung B gemäß der Kriterien der Lung Rejection Study Group.....	38
Tabelle 4: Klassifikation der BOS-Stadien .....	40
Tabelle 5: Analyse der Transplantatempfänger im Studienkollektiv .....	43
Tabelle 6: Grundcharakteristika der Spender im Studienkollektiv .....	46
Tabelle 7: Vergleich der Grundcharakteristika zwischen den Gruppen der de novo DSA negativen und positiven Patienten .....	48
Tabelle 8: Vergleich der Grundcharakteristika zwischen den Gruppen der Patienten mit transienten und mit persistierenden DSA .....	49
Tabelle 9: Patienten mit präformierten HLA-Antikörpern.....	52
Tabelle 10: Vergleich der vPRA bei DSA positiven und negativen Patienten sowie bei Patienten mit transienten und persistierenden DSA .....	54
Tabelle 11: Vergleich der DSA-Spezifikationen bei DSA positiven Patienten sowie bei Patienten mit transienten und persistierenden DSA .....	55
Tabelle 12: Vergleich der perioperativen Daten der Patienten mit und ohne de novo DSA und der Patienten mit transienten und persistierenden DSA .....	62
Tabelle 13: Vergleich der perioperativen Daten der Patienten mit und ohne HLA-Antikörper.....	63
Tabelle 14: CMV-Konstellationen der DSA negativen und positiven Patienten sowie der Patienten mit transienten und persistierenden DSA .....	65

Tabelle 15: Wechsel des Immunsuppressionsschemas von Tacrolimus auf Cyclosporin A in den ersten 3 Monaten nach der Transplantation.....	67
Tabelle 16: FEV1 (Istwert in Prozent vom Sollwert) bei DSA negativen und positiven Patienten sowie bei Patienten mit transienten und persistierenden DSA ein Monat, 3, 6 und 12 Monate nach der Transplantation .....	68
Tabelle 17: Entwicklung der FEV1 (Istwert in Prozent vom Sollwert) im Vergleich zum letzten präoperativen Wert bei DSA negativen und positiven Patienten und bei Patienten mit transienten und persistierenden DSA ein Monat, 3, 6 und 12 Monate nach der Transplantation .....	70
Tabelle 18: Entwicklung der FEV1 und Vitalkapazität bei Patienten ohne HLA Antikörper und bei Patienten mit persistierenden DSA.....	71
Tabelle 19: BOS Stadien der DSA negativen und positiven Patienten sowie der Patienten mit transienten und persistierenden DSA .....	74
Tabelle 20: Todesursachen und Überlebenszeit aller verstorbenen Patienten .....	80
Tabelle 21: Übersicht über alle Patienten mit de novo DSA.....	84

## **Abkürzungsverzeichnis**

ACR	Acute cellular rejection; akute zelluläre Abstoßung
AMR	Antibody mediated rejection; Antikörper vermittelte Abstoßung
BAL	Bronchoalveolare Lavage
BGA	Blutgasanalyse
BMI	Body Mass Index
BOS	Bronchiolitis obliterans Syndrom
CDC	Complement-dependent cytotoxicity; Komplementabhängige Lymphozytotoxizität
CF	Zystische Fibrose
CLAD	Chronic lung allograft dysfunction
CMV	Cytomegalievirus
CNI	Calcineurininhibitor
COPD	Chronisch-obstruktive Lungenerkrankung
CRP	C-reaktives Protein
DLTX	Doppelungentransplantation
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSA	Donorspezifische Antikörper
E	Empfänger
ECMO	Extrakorporale Membranoxygenierung
EK	Erythrozytenkonzentrat

ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FEV1	Einsekundenkapazität
HLA	Humane Leukozyten Antigene
ILD	Interstitial lung disease; interstitielle Lungenerkrankung
ISHLT	International society of heart and lung transplantation
IVIG	intravenöse Immunglobuline
KUM	Klinikum der Universität München
LAS	Lung allocation score; Lungen Allokations Score
LCT	Lymphocytotoxicity test; Lymphozytotoxizitätstest
LSA	Luminex Single Antigen Bead Assay
MFI	Mean fluorescence intensity; mittlere Fluoreszenzintensität
MHC	Major Histocompatibility Complex
MMEF	Maximal mid-expiratory flow; mittlerer exspiratorischer Fluss
MMF	Mycophenolatmofetil
nDSA	nicht donorspezifische Antikörper
PCR	Polymerase chain reaction; Polymerase-Kettenreaktion
PE	Phycoerythrin
PGD	Primary graft dysfunction
S	Spender
SLTX	Single lung transplantation; Einzellungentransplantation
SSO	Sequence-specific oligonucleotide; Sequenz spezifische Oligonukleotide

SSP	Sequence-specific priming; Sequenz-spezifischer Primer
TBB	Transbronchiale Biopsie
TK	Thrombozytenkonzentrat
VC	Vitalkapazität
vPRA	Virtueller Prozentsatz der Panel-reaktiven Antikörper

# **1. EINLEITUNG**

## **1.1. Einführung**

Eine Lungentransplantation stellt für Patienten, die unter einer schweren, chronischen Lungenerkrankung im Endstadium leiden, eine entscheidende Therapiemöglichkeit dar [1]. Die mittlere Lebenserwartung nach einer solchen Transplantation beträgt jedoch nur sechs Jahre. Das Langzeitüberleben der Patienten wird insbesondere durch die Entwicklung eines Bronchiolitis obliterans Syndroms (BOS), der Hauptmanifestation der chronischen Transplantatdysfunktion (chronic lung allograft dysfunction; CLAD) limitiert [2-4].

Nach einer Lungentransplantation entwickelt rund ein Drittel der Patienten de novo donorspezifische HLA-Antikörper (DSA), welche mit vermehrtem Auftreten von BOS [5-10] und einem schlechteren Überleben assoziiert sind [8, 10-14].

Die Antikörper vermittelte, also humorale Abstoßung, ist neben der zellulären Abstoßung eine Hauptform der akuten Transplantatabstoßung. Die Ursache für die Entwicklung einer humoralen Abstoßung konnte bis heute nicht aufgeklärt werden [15].

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Bedeutung von de novo DSA auf den Therapieerfolg nach einer Lungentransplantation zu untersuchen.

## **1.2. Die Lungentransplantation**

### **1.2.1. Geschichte**

Im Jahr 1963 führte James D. Hardy die erste erfolgreiche Lungentransplantation durch. Obwohl der Patient am 18. postoperativen Tag an Nierenversagen verstarb, konnte gezeigt werden, dass eine solche Transplantation grundsätzlich möglich ist [16]. In den 1980er Jahren wandelte sich die Lungentransplantation von einem eher experimentellen Verfahren zu einer wirklichen Therapieoption [17]. So wurde 1983 die erste langfristig erfolgreiche Einzellungentransplantation (single lung transplantation; SLTX) und 1986 die erste en bloc Doppellungentransplantation (DLTX) an der Universität von Toronto durchgeführt [17]. Diese Entwicklung war maßgeblich durch die Einführung von Cyclosporin als

Immunsuppressivum möglich geworden [18]. Von 1985 bis 2013 stieg die Zahl der Lungentransplantationen weltweit kontinuierlich an und lag im Jahr 2013 bei 3898 und im Jahr 2015 bei 4122 Transplantationen, die dem Register der internationalen Gesellschaft für Herz und Lungentransplantation (International Society for Heart and Lung Transplantation; ISHLT) gemeldet wurden [2, 4].

### **1.2.2. Transplantationsverfahren und Indikation**

Seit der Jahrtausendwende werden mehr Doppellungen- als Einzellungentransplantationen durchgeführt, was bedingt ist durch ein besseres Langzeitüberleben von Patienten nach einer DLTX [2]. Laut dem ISHLT Register betrug das mediane Überleben im Zeitraum zwischen 1990 und 2015 nach einer DLTX 7,4 Jahre im Vergleich zu 4,6 Jahren nach einer SLTX, jedoch ist der Einfluss der Grunderkrankung auf die unterschiedlichen Überlebensraten nicht vollständig geklärt [2, 4]. Die Wahl des Therapieverfahrens hängt wiederum von der Grunderkrankung ab [19]. So wird bei zugrundeliegender zystischer Fibrose (CF) eine DLTX und bei idiopathischer Lungenfibrose und chronisch-obstruktiver Lungenerkrankung (COPD) in einigen Fällen auch eine SLTX durchgeführt [19]. Die SLTX trägt dem zunehmenden Organmangel Rechnung und kommt unter Umständen bei Patienten auf der Warteliste mit einem hohen Mortalitätsrisiko in Frage [17].

Die Hauptindikation für eine Listung zur Lungentransplantation stellte zwischen 1995 und 2014 die COPD mit 32% dar, gefolgt von der interstitiellen Lungenerkrankung (ILD) mit 16%, der CF (16%) und dem alpha-1-Antitrypsinmangel (5%). In den letzten Jahren kam es zu einer Abnahme von Patienten mit COPD und zu einer Zunahme von Patienten mit idiopathischer Lungenfibrose [2]. Nach Einführung des Lungen Allokations Scores (LAS) 2011 in Deutschland wurden die Organe vermehrt Patienten mit einer Lungenfibrose zugeteilt, wohingegen Patienten mit einer COPD weniger wahrscheinlich als früher eine Organzuteilung erfahren [20]. Diese Umverteilung von Spenderorganen ist der Tatsache geschuldet, dass ein potentieller Überlebensgewinn durch die Transplantation bei Patienten mit einer COPD geringer ausfällt als bei Patienten mit einer zystischen Fibrose oder einem pulmonalen Hypertonus [21, 22]. Ein terminales Organversagen durch BOS ist die häufigste Indikation für eine Re-transplantation [17].

### **1.2.3. Warteliste und Vergabe von Spenderorganen**

Im Jahr 2005 wurde in den USA der Lungenallokationsscore eingeführt, welcher sowohl die Dringlichkeit (Wahrscheinlichkeit auf der Warteliste zu versterben) als auch die Erfolgsaussicht des Patienten (Wahrscheinlichkeit das erste Jahr nach der Transplantation zu überleben) berücksichtigt und weniger die bereits verbrachte Zeit auf der Warteliste [23, 24]. Die Berechnung des LAS Scores erfolgt auf Grundlage der Grunderkrankung des Patienten, medizinischer Daten, wie Laborwerten, Sauerstoffbedarf und weiterer Untersuchungsergebnisse [21, 24].

In Deutschland erfolgte die Organvergabe seit den 1990er Jahren auf Grundlage von Wartezeit und Dringlichkeit [20]. Durch dieses Vergabesystem kam es zunehmend zu Transplantationen von Patienten, die hochdringlich (HU) gelistet waren. Im November 2011 wurde in Anlehnung an das amerikanische Organvergabesystem auch in Deutschland die Vergabe von Spenderorganen nach dem LAS System implementiert [21]. Bisher deuten die Ergebnisse darauf hin, dass sich seit Einführung des LAS Score Systems das Überleben der Patienten in den ersten Monaten nach einer Lungentransplantation nicht verschlechtert und das 1-Jahresüberleben sogar besser ausfällt [21, 25-27]. Darüber hinaus verringerte sich im Schnitt die Wartezeit auf ein Organ sowie die Wartelistensterblichkeit von 21% auf 15% [20, 21]. Auch in den USA nahm die Wartelistensterblichkeit nach Einführung des LAS Systems signifikant ab. Die Zahl der Lungentransplantationen stieg trotz Rückgang der Spenderzahlen an [28].

Die Vermittlungsstelle von Organen hirntoter Spender aus Deutschland, Österreich, den Benelux-Ländern, Kroatien, Ungarn und Slowenien ist die Stiftung Eurotransplant mit Sitz in Leiden in den Niederlanden [29]. Die Koordinierungsstelle für Deutschland ist die Deutsche Stiftung Organtransplantation.

Im Jahr 2014 befanden sich 747 Patienten auf der Warteliste für eine Lungentransplantation im Gebiet von Eurotransplant [30]. In Deutschland wurden im Jahr 2014 413 Patienten neu für eine Lungentransplantation angemeldet und 352 Lungentransplantationen wurden an 15 verschiedenen Zentren durchgeführt [31, 32]. Ein Problem besteht darin, dass das Organangebot derzeit nicht den Bedarf deckt [29].

#### **1.2.4. Immunsuppression und Infektionsprophylaxe**

Das Ziel der immunsuppressiven Therapie nach der Transplantation besteht in der Unterdrückung einer Abstoßung des Spenderorgans durch das Immunsystem des Empfängers [33]. Generell ist eine Immunsuppression mit einer erhöhten Infektanfälligkeit und einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Tumoren gekennzeichnet, weshalb das eigene Immunsystem durch die Medikamente nicht zu sehr eingeschränkt werden darf [29, 33].

Die immunsuppressive Langzeittherapie nach der Transplantation besteht beim Großteil der Patienten aus einem Calcineurininhibitor, einem Zellzyklusinhibitor und einem Kortikosteroid [34]. Tacrolimus und Cyclosporin A sind die gebräuchlichsten Calcineurininhibitoren (CNI), wobei Tacrolimus mit 83% im ersten Jahr und 77% nach 5 Jahren am häufigsten verwendet wird [35, 36]. Calcineurininhibitoren verhindern die Aktivierung von T-Lymphozyten über eine Inhibition der IL2-Synthese [29]. Sie haben ein großes Nebenwirkungsspektrum mit ausgeprägter Nephrotoxizität und nur eine enge therapeutische Breite [34]. Als Zellzyklusinhibitor wird vornehmlich Mycophenolatmofetil (MMF) verwendet. Die wichtigste Nebenwirkung von MMF ist die Knochenmarkstoxizität, welche vor allem bei gleichzeitiger antiviraler Behandlung zu einer Leukopenie führt und zu einer Dosisreduktion oder zum vorübergehenden Absetzen von MMF zwingt [34].

Da durch die zusätzliche Gabe des Immunsuppressivums Everolimus, einem mTOR-Inhibitor, die Calcineurininhibitordosis reduziert und möglicherweise die Inzidenz von BOS im Vergleich zu konventioneller immunsuppressiver Therapie gesenkt werden kann, wird in manchen Fällen eine Vierfachtherapie mit Everolimus und reduzierter Tacrolimus-Dosis angewandt [34, 37]. Dadurch erhofft man sich eine geringere Einschränkung der Nierenfunktion [37, 38]. Da bislang noch in keiner Studie abschließend gezeigt werden konnte, welches Protokoll das Beste ist, wird die Entscheidung unter Berücksichtigung der oben genannten Punkte individuell auf den Patienten abgestimmt [34, 39].

Die Langzeitimmunsuppression macht eine Infektprophylaxe notwendig. Dazu gehört eine antimykotische Prophylaxe, eine lebenslange Einnahme von Cotrimoxazol zur

Verhinderung einer Pneumozystis carinii Infektion sowie eine präemptive oder prophylaktische Therapie einer Cytomegalievirus-Infektion (CMV-Infektion) [17, 40].

### **1.2.5. Komplikationen**

#### **1.2.5.1. Chirurgische Komplikationen**

Bei einer Lungentransplantation können die allgemeinen chirurgischen Komplikationen, wie peri- und postoperative Blutungen, Pneumonien, Thrombosen, Wundheilungsstörungen und Verletzung von benachbarten Strukturen, wie des Nervus phrenicus und des Ösophagus auftreten [17]. Eine problematische chirurgische Komplikation stellt die Wundheilungsstörung an der bronchialen Anastomose dar, die häufig in der Ausbildung einer Anastomoseninsuffizienz mündet. Diese ist mit einer hohen postoperativen Morbidität und Mortalität assoziiert [17].

#### **1.2.5.2. Infektiologische Komplikationen**

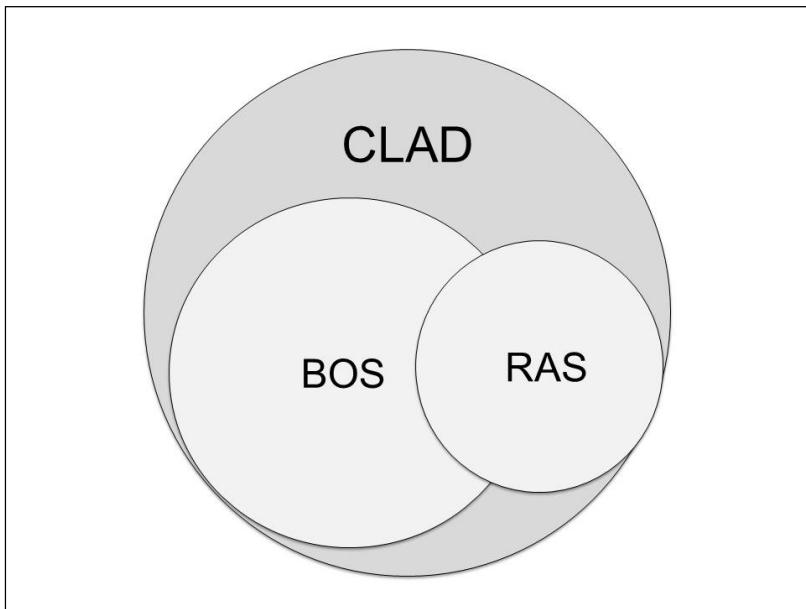
Besonders zu beachten sind intrathorakale und systemische Infekte, die sowohl unmittelbar postoperativ als auch im weiteren Verlauf nach der Transplantation auftreten können und mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität assoziiert sind [17, 34, 40]. Lungentransplantierte Patienten sind besonders gefährdet aufgrund des direkten Kontakts der Lunge zur Umgebung, der Immunsuppression und der Denervierung nach der Operation, die mit einer verringerten mukoziliären Clearance einhergeht [41]. Bakterielle Pneumonien, insbesondere mit Keimen wie *Pseudomonas aeruginosa*, sowie Pilzinfektionen stellen eine häufige und schwerwiegende Komplikation dar [41].

### **1.2.6. Chronische Transplantatdysfunktion**

In den letzten Jahren wurde der Begriff CLAD als Überbegriff der verschiedenen Phänotypen einer Transplantatdysfunktion eingeführt [42, 43]. BOS ist die

Hauptmanifestation der obstruktiven CLAD und tritt bei nahezu 50% der Patienten nach 5 Jahren und bei über 70% der Patienten 10 Jahren nach einer Lungentransplantation auf [2, 3]. BOS ist eine der häufigsten Ursachen für ein Transplantatversagen nach LTX [33, 35]. Durch eine fortschreitende Obstruktion der kleinen Atemwege kommt es zu einer akuten oder langsam fortschreitenden Verschlechterung der respiratorischen Funktion [9]. Da die obliterative Bronchiolitis histologisch nur schwer nachzuweisen ist, wurde 1993 der Begriff des Bronchiolitis obliterans Syndroms eingeführt. BOS wird definiert über einen irreversiblen Abfall der Einsekundenkapazität (FEV1)  $\leq 80\%$  der postoperativen Baseline-FEV1 [9, 44]. Nach dem Auftreten eines BOS ist die Mortalität signifikant erhöht [35, 42, 45]. Nicht alle Patienten die eine Verschlechterung der Lungenfunktion nach einer Lungentransplantation entwickeln leiden unter einer obstruktiven Form der CLAD. Bei einigen Patienten lässt sich eine Restriktion nachweisen. Deshalb wird diese Form restriktive Transplantatdysfunktion (restrictive allograft syndrome; RAS) genannt [42]. Die Diagnose einer CLAD beziehungsweise BOS/RAS kann erst nach Ausschluss anderer möglicher Ursachen, wie einer Infektion, eines Pleuraergusses oder einer Anastomosenstenose gestellt werden [42].

Zu den Risikofaktoren für die Entwicklung eines BOS gehören unter anderem: 1) primary graft dysfunction (PGD), 2) akute zelluläre Abstoßung (acute cellular rejection; ACR), 3) Antikörper vermittelte Abstoßung (antibody mediated rejection; AMR), 4) lymphozytäre Bronchiolitis, 5) Infektionen und 6) gastroösophagealer Reflux [44]. In Abhängigkeit der zugrundliegenden Ursache des BOS kann eine Behandlung durch Gabe von Azithromycin, bei nachgewiesener Neutrophilie in der bronchoalveolären Lavage (BAL), eine Fundoplikatio bei Nachweis einer Refluxösophagitis und eine Retransplantation bei irreversibler Schädigung der Lunge diskutiert werden [39, 42, 44].



Grafik nach Verleden et al. [42]

**Abbildung 1: CLAD als Überbegriff verschiedener Ausprägungen einer chronischen Transplantatdysfunktion wie BOS und RAS**

(*CLAD: chronic lung allograft dysfunction, BOS: Bronchiolitis obliterans syndrome, RAS: restrictive allograft syndrome*)

### 1.2.7. Akute zelluläre Abstoßung

Eine ACR tritt bei ungefähr einem Drittel der Patienten im ersten Jahr nach einer Lungentransplantation auf [15]. Die klinische Symptomatik der ACR ist unspezifisch oder sogar asymptomatisch [15, 39]. Die Diagnose wird mittels einer bronchoskopisch gewonnenen transbronchialen Biopsie (TBB) gestellt und wird in eine Grad A Abstoßung mit perivaskulären Lymphozyteninfiltraten und eine Grad B Abstoßung mit peribronchialen Lymphozyteninfiltraten und lymphozytärer Bronchiolitis eingeteilt [46]. Zwar ist die Mortalität aufgrund einer ACR gering, jedoch ist sie ein signifikanter Risikofaktor für die Entwicklung von BOS [15].

### **1.2.8. Outcome und Überleben**

Die mediane Überlebensrate nach einer Lungentransplantation betrug laut ISHLT Register zwischen 1995 und 2015 72 Monate [4]. Im Zeitraum zwischen 2009 und 2015 lag die 1-Jahres Überlebensrate bei 84% und die 5-Jahres Überlebensrate bei 57% [4]. Im Laufe der letzten Jahre hat sich vor allem das 1-Jahresüberleben verbessert. Im Gegensatz dazu ist das langfristige Überleben im Wesentlichen unverändert [4]. Ein unabhängiger Prognosefaktor für das Überleben ist die zugrundeliegende Erkrankung. Patienten mit einer zystischen Fibrose haben eine bessere Langzeitprognose (medianes Überleben 9,2 Jahre) als Patienten mit einer COPD (medianes Überleben 5,8 Jahre) [4].

Die häufigsten Ursachen die zum Tod innerhalb des ersten Jahres nach der Transplantation führen sind akutes Transplantatversagen (einschließlich BOS) sowie akute virale und bakterielle Infektionen [2, 4]. Maligne Tumore, wie Lymphome und Hautkrebs, stellen im weiteren Verlauf eine relevante Todesursache dar [2, 4, 35].

## **1.3. Das HLA-System und donorspezifische HLA-Antikörper**

### **1.3.1. Das HLA-System**

Eine allogene Transplantation ist immer mit einer Gewebeunverträglichkeit (Histoinkompatibilität) verbunden und führt zur Abstoßung des übertragenen Organs [29]. Die Ausprägung der Abstoßung ist abhängig vom Unterschied in den Transplantationsantigenen, insbesondere in den Haupthistokompatibilitätsantigenen [47]. Die Funktion der Haupthistokompatibilitätsantigenen besteht in der Identifikation körpereigener Zellen und der Präsentation von Antigenen [47]. Sie wurden beim Menschen zuerst auf den Leukozyten gefunden und heißen deshalb Humane Leukozyten Antigene (HLA) [29]. Seit der Entdeckung des ersten HLA-Phänotyps durch Dausset im Jahr 1958 sind mittlerweile eine große Anzahl weiterer HLA-Phänotypen identifiziert worden [48, 49]. Das HLA-System weist einen enormen Polymorphismus mit mehr als 4000 Allelen für die Gene von HLA-A, -B, -C, -DR, und DQ auf [49]. Die genetische Information für deren Bildung liegt auf dem Chromosom 6p21, dem sogenannten Haupthistokompatibilitätskomplex (major histocompatibility Komplex; MHC) [29]. Nach

Empfehlung der WHO zur Nomenklatur bezeichnet „HLA“ das System, die Buchstaben den Locus und die Ziffern die Spezifität [49]. Neue anerkannte Sequenzen von HLA-Allelen werden regelmäßig dem WHO Nomenklatur Komitee gemeldet [49, 50]. Die HLA-Klasse I Gene werden von allen somatischen Zellen exprimiert, die Gene der Klasse II werden von antigenpräsentierenden Zellen, wie Makrophagen, dendritischen Zellen und B-Lymphozyten exprimiert [51]. Transplantationsrelevant sind die HLA-Moleküle der Klasse I, HLA-A, -B und -C und die HLA-Moleküle der Klasse II, HLA-DR, -DQ und DP [29].

Bei einer allogenen Transplantation führt die Gegenwart fremder HLA-Moleküle, sowohl als präsentierende Moleküle als auch als präsentierte antigene Peptidfragmente zur Alloreaktion [47]. Deshalb wird bei einer Transplantation eine HLA-Typisierung zum Zweck der Spender/Empfänger-Auswahl durchgeführt [47].

Bei Patienten nach einer Nierentransplantation wurde beobachtet, dass die Anwesenheit von Antikörpern im Serum von Patienten vor einer Organtransplantation, die mit Lymphozyten des Spenders reagieren, mit dem Auftreten einer Transplantatabstoßung korreliert [29]. Deshalb wird nach der Vorauswahl des Spenders gemäß Blutgruppe und HLA-Kompatibilität bei der Organtransplantation eine serologische Kreuzprobe durchgeführt, um potenzielle Empfänger auf das Vorliegen von spunderspezifischen lymphozytotoxischen Anti-HLA-Antikörpern zu untersuchen [47]. Sowohl durch die Untersuchung auf zytotoxische HLA-Antikörper bei Patienten auf der Warteliste als auch durch die obligate lymphozytäre Kreuzprobe konnte die Rate an hyperakuten Abstoßungen sehr weit reduziert werden [29, 52]. Für die Entstehung von Anti-HLA-Antikörpern kommen bestimmte Sensibilisierungssituationen, wie Schwangerschaft, Bluttransfusionen und Transplantationen in Frage [29, 47].

Bei der chronischen Abstoßung, die nach mehreren Jahren bedeutsam wird und nach progredienter Abnahme der Organfunktion meist zum Verlust des Transplantats führt, finden sich bei Nierentransplantationen in 70% der Fälle spunderspezifische HLA-Antikörper [29].

### **1.3.2. Methoden der HLA-Typisierung und des HLA-Antikörper Screenings**

Bei den Methoden der HLA-Typisierung und der HLA-Antikörper Diagnostik lässt sich zwischen serologischen Verfahren (Lymphozytotoxizitätstest (LCT), Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA), Durchflusszytometrie) und molekulargenetischen Verfahren (PCR-basierte Verfahren) unterscheiden [47].

Der LCT oder auch komplementabhängige Lymphozytotoxizität (CDC) genannt, stellt eine klassische serologische, zellbasierte Methode zum HLA-Antikörper Nachweis, zur HLA-Genotypisierung und zur Durchführung einer lymphozytären Kreuzprobe dar [53]. Da die Sensitivität und Spezifität des CDC relativ gering sind, wird der CDC heutzutage meist nur noch für die Kreuzprobe verwendet [54]. Die HLA-Antikörper Charakterisierung und HLA-Typisierung werden mittels Festphase-Methoden wie ELISA und Durchflusszytometrie (z.B. Luminex-Technologie) beziehungsweise mittels molekulargenetischer Methoden durchgeführt [55].

Die Grundlage der molekulargenetischen Methoden zur HLA Typisierung, die in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen haben, ist die Identifikation der DNA-Zielsequenz mittels PCR-Amplifikation [29, 53]. Die PCR-abhängigen Verfahren können in drei Gruppen eingeteilt werden [47].

Die PCR Primeranalytik mittels sequenz-spezifischer Primer (PCR-SSP) basiert darauf, dass durch Einsatz spezifischer Primer vorhandene Allele oder Allelgruppen amplifiziert werden. Diese spezifischen PCR-Produkte werden mittels Gelelektrophorese oder Farbreaktion differenziert [47]. Die PCR-SSP ist eine schnelle Einzelbestimmungsmethode und wird für Organspenderdiagnostik oder als Bestätigungsdiagnostik verwendet [53, 56].

Die zweite Methode der molekulargenetischen Typisierung ist die Gensondenanalytik (PCR-SSO, Sequenz-spezifische Oligonukleotid Probe). Dabei wird zunächst eine PCR-Amplifikation der Zielsequenz auf der DNA durchgeführt. Der Nachweis bestimmter Basensequenzen wird nun durch die Hybridisierung von Oligonukleotidsonden mit der Zielsequenz erreicht. Ein bestimmtes Allel ist dann durch das Hybridisierungsmuster mehrerer sequenzspezifischer Oligonukleotidsonden charakterisiert und kann durch eine

enzymatische Farbreaktion der vorher mit einem Farbstoff markierten Gensonde nachgewiesen werden [53].

Zur HLA-Typisierung kann auch eine direkte Sequenzierung der HLA-Klasse I und II Gene durchgeführt werden [47]. Diese Methode ist jedoch Zeit- und Materialaufwendig und bleibt speziellen Fragestellungen vorbehalten [47, 55].

Darüber hinaus hat sich nun der Einsatz farbkodierter Mikropartikel als Sondenträger im Rahmen der Lab/xMAB- (laboratory multiple analyte profiling) beziehungsweise Luminex-Technologie etabliert [53].

Die Luminex-basierte Technologie ist mittlerweile weit verbreitet, da diese Technologie für die HLA-Analysen eine schnelle Probenprozessierung mit hoher Kosteneffektivität bietet [55]. Sie kann sowohl für die HLA-Antikörper Diagnostik als auch zur Genotypisierung verwendet werden. Die Luminex-Technologie ist eine sehr sensitive Methode, um Alloimmunisierung nachzuweisen [57]. Es werden sowohl komplementbindende als auch nicht komplementbindende Antikörper nachgewiesen [54].

### **1.3.3. Bedeutung von donorspezifischen HLA-Antikörpern bei Lungentransplantationen**

Bis heute ist die Bedeutung von de novo DSA nicht vollständig geklärt, obwohl DSA bei einer erstaunlich großen Anzahl von Lungentransplantierten auftreten [6]. Die Inzidenz von de novo DSA liegt zwischen 10% und 60% [5-8, 10, 12-14, 58-60]. Das Vorhandensein von DSA scheint zu vermehrtem Auftreten von BOS [5-9] und zu einer beschleunigten Entwicklung von BOS zu führen [6-8, 10].

Vieles deutet außerdem darauf hin, dass das Vorhandensein von DSA zu einem schlechteren Überleben führt [8, 10-14]. Mittlerweile haben mehrere Studien gezeigt, dass es Patienten gibt, bei denen de novo DSA spontan eliminiert werden [8, 13, 61]. Gerade DSA, die über einen längeren Zeitraum persistieren, scheinen hingegen mit einem schlechteren Ergebnis assoziiert zu sein [8, 13].

Es gibt verschiedene Ansätze zum Umgang mit de novo DSA nach einer Lungentransplantation. Während einige Patienten mit de novo DSA standardmäßig mit verschiedenen Kombinationen von Rituximab, Plasmapherese oder intravenösen Immunglobulinen (IVIG) behandelt wurden [14, 59, 61], beschrieben andere Arbeiten ein individualisiertes Behandlungskonzept von de novo DSA in Zusammenschau mit der Transplantatfunktion und dem Krankheitsverlauf [13, 62]. Der Stellenwert der zielgerichteten Therapie der DSA, sowie der richtige Zeitpunkt und die Selektion der richtigen Patienten für eine Therapie sind nach wie vor unklar.

Die Antikörper vermittelte Abstoßung ist neben der ACR (s. Kapitel 1.2.7) eine Hauptform der akuten Transplantatabstoßung und bis heute nicht ausreichend definiert und verstanden [15]. Folgende Kriterien werden zumeist für die Definition einer AMR verwendet: zirkulierende DSA, histologischer Nachweis einer akuten Schädigung der Lunge, Ablagerung des Komplementprodukts C4d im Alveolarseptum und klinische Symptome eines Transplantatversagens [62]. Die AMR kann fulminant verlaufen und ist assoziiert mit der Entwicklung von CLAD und schlechterem Überleben [62, 63]. Nichtsdestotrotz ist die Entwicklung von DSA nicht spezifisch für eine AMR, da DSA auch mit einer ACR assoziiert sind [6, 64]. Eine AMR kann sowohl zeitlich zusammen mit de novo DSA als auch erst Wochen bis Monate nach dem Nachweis von de novo DSA auftreten [63].

Besonders schädlich könnten zudem komplementbindende DSA sein, da man bei Nieren- und Herztransplantationen gesehen hat, dass die Fähigkeit C1q zu binden zu einer erhöhten Rate von Transplantatversagen führte [65-67]. Auch bei Lungentransplantationen war das Vorhandensein von C1q-bindenden DSA mit Transplantatversagen assoziiert [7, 65].

#### **1.4. Zusammenfassung und Fragestellung**

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Bedeutung sowie den zeitlichen Verlauf donorspezifischer, also gegen die Spenderlunge gerichteter Antikörper auf den Therapieerfolg bei Lungentransplantationen zu untersuchen. Der Therapieerfolg wurde unter anderem anhand der Ergebnisse der Lungenfunktion, des Auftretens von BOS und des Überlebens nach der Transplantation bewertet.

Daraus ergaben sich folgende Fragestellungen für diese Arbeit:

- Was sind Risikofaktoren für die Entwicklung von de novo DSA nach einer Lungentransplantation?
- Mit welcher Häufigkeit und zu welchem Zeitpunkt treten de novo DSA nach einer Lungentransplantation auf?
- Wie hoch ist die spontane Eliminierungsrate von de novo DSA nach einer Lungentransplantation und wann tritt sie auf?
- Welche Bedeutung haben de novo DSA auf den Therapieerfolg nach einer Lungentransplantation?
- Welche Rolle spielen transiente und persistierende DSA sowie komplementbindende DSA für die Entwicklung einer chronischen Transplantatdysfunktion und für das Überleben nach einer Lungentransplantation?

## **2. PATIENTEN UND METHODEN**

### **2.1. Studiendesign und Studiendurchführung**

Das Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss donorspezifischer Antikörper auf den Therapieerfolg nach einer Lungentransplantation zu beurteilen. Dafür wurden 75 erwachsene Patienten, die eine Einzel- oder Doppellungentransplantation am Klinikum der Universität München (KUM) am Campus Großhadern in den Jahren 2013 bis 2015 erhielten, in einer Datenbank erfasst. Nach der Transplantation wurden die klinischen Verlaufsdaten im Sinne einer prospektiven Kohortenstudie zeitgleich zu deren Erhebung in die Datenbank aufgenommen. Eingeschlossen wurden erwachsene, einwilligungsfähige Patienten mit vorliegender schriftlicher Einverständniserklärung. Der erste Patient dieses Studienkollektivs wurde am 05.10.2013 und der Letzte am 21.02.2015 transplantiert. Die Nachbeobachtungszeit endete am 01.03.2016 oder gegebenenfalls zum Todeszeitpunkt des jeweiligen Patienten. Es wurden sowohl vor als auch nach der Transplantation routinemäßig HLA-Antikörper gemessen und in de novo DSA und nicht donorspezifische Antikörper (nDSA) unterteilt. Da ein Teil der DSA nur vorübergehend nach der Transplantation und der andere Teil über den kompletten Beobachtungszeitraum nachzuweisen waren, wurden die DSA darüber hinaus in transiente und persistierende DSA eingeteilt. Auch diese Subgruppen wurden analysiert. Drei Patienten wurden aus der Studie ausgeschlossen, da sie früh nach der Transplantation verstarben und keine Serumprobe postoperativ auf HLA-Antikörper getestet wurde. Insgesamt wurden somit 72 Patienten in die Studie eingeschlossen.

Die Datenbank enthielt Untersuchungsergebnisse, die dem klinikeigenen Dokumentationssystem einschließlich Arztbriefen der entsprechenden Abteilungen entnommen wurden. Vor der Transplantation erfolgte die Vorstellung der potentiellen Empfänger über das Transplantationszentrum des Klinikums der Universität München. Hier wurden die notwendigen Untersuchungen zur Aufnahme auf die Warteliste sowie die Kontrolluntersuchungen während der Wartezeit durchgeführt. Nach Abschluss der stationären Behandlung nach der Transplantation wurden die Kontrollen ebenfalls im Transplantationszentrum durchgeführt.

Die Daten der HLA-Typisierung und des HLA-Antikörperscreenings stammten aus der Datenbank des Labors für Immungenetik und molekulare Diagnostik des Klinikums der Universität München. Alle Untersuchungen, wie Blutentnahmen, HLA-Antikörperscreeninguntersuchungen, Bronchoskopien und Lungenfunktionsmessungen wurden routinemäßig in den entsprechenden Abteilungen des Klinikums und nicht speziell für diese Studie durchgeführt. Die Daten der zugehörigen Spender stammten von Eurotransplant [30].

Die Studie wurde von der Ethikkommission der LMU München genehmigt. Die Patienten wurden bereits zum Zeitpunkt der Listung über die Beobachtungsstudie aufgeklärt und mussten schriftlich einwilligen.

## **2.2. Zeitlicher Ablauf der Studie**

Vor der Transplantation erfolgten zur Aufnahme auf die Warteliste routinemäßig eine HLA-Typisierung sowie ein HLA-Antikörperscreening der Transplantatempfänger. Unmittelbar vor der Transplantation wurde das HLA-Antikörperscreening wiederholt.

Nach der Transplantation wurden die Patienten zu vorher festgelegten Zeitpunkten auf das Vorhandensein von HLA-Antikörpern getestet. Kontrollbronchoskopien mit Entnahme von transbronchialen Biopsien und Durchführung einer bronchoalveolären Lavage wurden jeweils zum selben Zeitpunkt durchgeführt. Bei Verdacht auf ein Transplantatversagen erfolgten diese Untersuchungen auch unabhängig von den regulären Kontrollterminen. Die Aufnahme von klinischen Parametern, wie die der klinischen Chemie, der CMV-PCR und Weiteren in die Datenbank erfolgte ebenfalls zu diesen Zeitpunkten (s. Tabelle 1).

Der zeitliche Ablauf und die Untersuchungsparameter der Studie sind in folgender Tabelle dargestellt (s. Tabelle 1):

<b>Nachbeobachtungszeitpunkte</b>	<b>HLA-Diagnostik</b>	<b>Erfassung von klinischen Daten</b>
<u>Vor Transplantation</u> Bei Aufnahme auf die Warteliste	HLA-Typisierung HLA-Antikörper	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Demografische Daten</li> <li>• Diagnose</li> <li>• Pulmonalarterielle Hypertonie</li> <li>• BMI</li> <li>• CMV-Status</li> <li>• Blutgruppe</li> </ul>
<u>Nach Transplantation</u>  21 ± 5 Tage 3 ± 1 Monate 6 ± 1 Monate 12 ± 2 Monate 18 ± 2 Monate	HLA-Antikörper	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Klinische Chemie</li> <li>• Lungenfunktion</li> <li>• CMV-PCR</li> <li>• Pilz-Serologie</li> <li>• Bronchoskopie (mit BAL und ggf. TBB)</li> </ul>
Unabhängig von den festgelegten Nachbeobachtungszeitpunkten		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Datum der Transplantation, Operationsart</li> <li>• Perioperative Daten (Ischämiezeit, ECMO, Horowitz-Index, Beatmungsdauer, Zeit auf Intensivstation, stationäre Behandlungsdauer, Transfusionen, Revisionen)</li> <li>• Immunsuppressive Therapie</li> <li>• Rehabilitationsverlauf (6-Minuten Gehtest)</li> <li>• Zeit bis BOS</li> <li>• Überlebenszeit und Todesursache</li> </ul>
Spender		<ul style="list-style-type: none"> <li>• HLA-Typisierung</li> <li>• Demografische Daten (Alter, Geschlecht)</li> <li>• BMI</li> <li>• CMV-Status</li> <li>• Todesursache</li> </ul>

**Tabelle 1: Zeitlicher Ablauf und Untersuchungsparameter der Studie**

(*HLA: Humane Leukozyten Antigene, Tx: Transplantation, BMI: Body Mass Index, CRP: C-reaktives Protein, BAL: Bronchoalveolare Lavage, TBB: Transbronchiale Biopsie, ECMO: extrakorporale Membranoxygenierung, BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom*)

### **2.3. Patientendemographie**

Die durchschnittliche Nachbeobachtungszeit der 72 Studienpatienten betrug  $20 \pm 4,9$  Monate mit einer Mindestnachbeobachtungszeit von 12 Monaten.

Die zur Transplantation führenden Diagnosen wurden zusammengefasst unter interstitielle Lungenerkrankungen (ILD), COPD (Emphysem und Alpha-1-Antitrypsinmangel), zystische Fibrose (CF) und andere. Zu den interstitiellen Lungenerkrankungen gehörten die idiopathische pulmonale Fibrose, die idiopathische interstitielle Pneumonie, die exogen-allergische Alveolitis und die Pneumokoniose. Die Kategorie „andere“ enthielt die primär pulmonale Hypertonie, die Bronchiektasie, die Fibroelastose, die Lymphangioleiomyomatose und die Sarkoidose. In dem Kollektiv dieser Studie gab es keine Retransplantation. Alpha-1-Antitrypsin Mangel war bei allen Patienten mit der Entwicklung einer COPD vergesellschaftet.

Die Operationsart wurde unterteilt in Doppel- und Einzellungentransplantation. Dabei wurde für die statistischen Analysen keine Unterscheidung zwischen rechter und linker SLTX gemacht.

Die Ischämiezeit der Lunge bezeichnete die Zeit zwischen Abklemmen der Aorta während der Organentnahme und Reperfusion der Lunge im Empfänger. Im Fall einer Doppellungentransplantation wurde die längste Ischämiezeit für die Analyse verwendet.

In einigen Fällen kam es intraoperativ zum Einsatz einer extrakorporalen Membranoxygenierung (ECMO). In der Analyse wurde der Einsatz einer veno-venösen als auch einer veno-arteriellen ECMO während und nach der Operation ausgewertet.

Der Horowitz-Index wurde über den Quotienten des arteriellen Sauerstoffpartialdrucks ( $\text{PaO}_2$ ) zu inspiratorischem Sauerstoffanteil ( $\text{FiO}_2$ ) berechnet.

Die Zahl der Transfusionen setzte sich zusammen aus den Transfusionen, die während der Transplantation und während der postoperativen Behandlung auf der Intensivstation verabreicht wurden. Für die statistische Auswertung wurde nur die Anzahl der korpuskulären Transfusionen (Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentrate) verwendet.

## **2.4. HLA-Typisierung und Screening**

### **2.4.1. Kreuzprobe**

Alle Patienten hatten vor der Transplantation eine negative T- und B-Zell Kreuzprobe mittels komplementabhängigem Lymphozytotoxizitätstest (LCT). Die Kreuzprobe wurde bei immunisierten Patienten im Spenderzentrum und bei nicht-immunisierten Patienten im Empfängerzentrum durchgeführt. Eine positive Kreuzprobe nach Zugabe von Dithiothreitol (DTT) war eine Kontraindikation für eine Transplantation.

Zur Durchführung der Kreuzprobe wurden Empfängerserum und mononukleäre Zellen des Spenders (aus peripherem Blut, Lymphknoten- oder Milzzellen) verwendet [29, 53].

#### Testprinzip:

Das Prinzip des LCT beruht darauf, dass Lymphozyten mit korrespondierenden HLA-Antigenen bei Inkubation mit anti-HLA spezifischen Seren in Anwesenheit von Komplement lysiert werden [47]. Voraussetzung für die Lyse sind zum einen die entsprechenden HLA-Antigene auf der Zelloberfläche und zum anderen die Fähigkeit Komplement zu fixieren [47]. Ein Vitalfarbstoff macht die Antigen-Antikörper-Reaktion sichtbar [47]. Durch Zugabe von Dithiothreitol (DTT) kann man die Antikörper vom IgM-Isotyp ausschließen und bekommt somit nur Rückschlüsse auf die IgG-Antikörper [47, 53].

### **2.4.2. HLA-Antikörper Screening**

Alle Patienten wurden bei Aufnahme auf die Warteliste auf HLA-Antikörper gegen HLA-Klasse I und Klasse II mit dem Luminex-Verfahren (LabScreen Mixed, One lambda, USA) getestet. Dies wurde alle sechs Monate wiederholt. Unmittelbar vor der Transplantation wurde das letzte Serum nochmals auf HLA-Antikörper untersucht.

Auch nach der Transplantation wurde das Screening auf HLA-Antikörper in regelmäßigen Abständen (nach 3 Wochen, 3 Monaten, 6 Monaten, 12 Monaten und 18 Monaten) durchgeführt. Bei den Patienten deren Screening auf HLA-Antikörper positiv war, erfolgte eine Messung mit Hilfe des Einzelantigen-Tests (LabScreen Single Antigen, One lambda, USA). Ab einer mittleren Fluoreszenzintensität (mean fluorescence intensity; MFI) von

über 1000 wurde ein HLA-Antikörper in Zusammenschau mit der Spender-HLA-Typisierung als donorspezifisch klassifiziert. Die mitgeführte Negativkontrolle sollte einen Wert von unter 500 haben. Es gibt zum einen präformierte HLA-Antikörper, welche bereits vor der Transplantation vorhanden sind und zum anderen de novo donorspezifische Antikörper, also nach der Transplantation aufgetretene und gegen den Spender gerichtete Antikörper. De novo DSA wurden als transient klassifiziert, wenn auf einen positiven Test mindestens ein negativer Test und kein weiterer positiver Test folgte. Im Gegensatz dazu, wurden DSA als persistierend bezeichnet, wenn nach einem positiven Test während der gesamten Beobachtungszeit kein negativer Test auftrat.

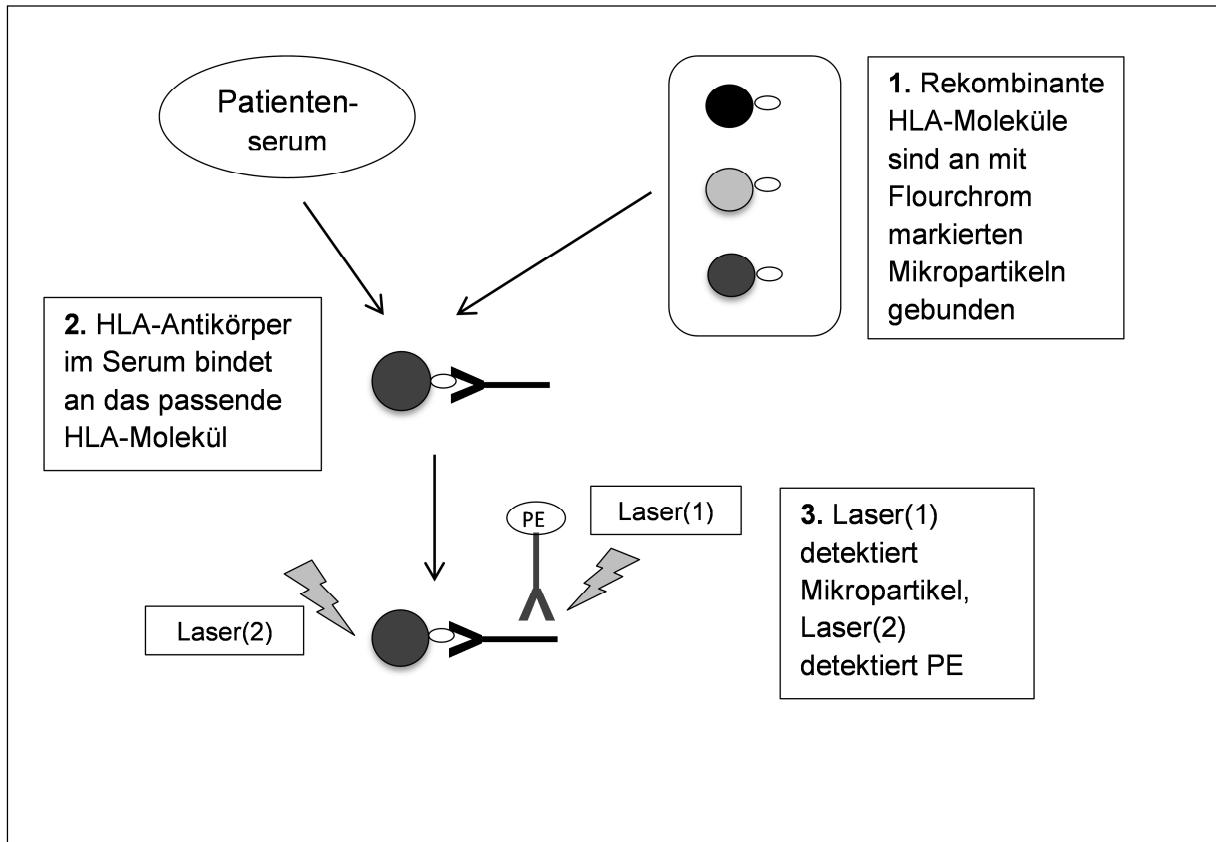
Die Patienten mit präformierten HLA-Antikörpern und die Patienten mit de novo DSA wurden mit dem C1q-Einzelantigentest (LabScreen, One lambda, USA) auf C1q-bindende HLA-Antikörper getestet. Die C1q-Messungen erfolgten in der ersten und letzten Serumprobe, in der de novo DSA aufgetreten waren.

Bei allen Patienten wurde außerdem der virtuelle Prozentsatz der Panel-reaktiven Antikörper (vPRA) berechnet. Die vPRA kann mit Hilfe der Kenntnis der HLA-Spezifitäten eines Testserums unter Berücksichtigung der HLA-Antigenverteilung in der Referenzbevölkerung, in dem Fall der Spenderpopulation von Eurotransplant, berechnet werden [53]. Die Kalkulation wurde mit dem virtuellen PRA Rechner von Eurotransplant durchgeführt [68].

#### Testprinzip:

Die HLA-Antikörper Diagnostik basiert darauf, dass farbkodierte Mikropartikel mit aufgereinigten HLA-Antigenen beladen werden, an welche die Anti-HLA-Antikörper des Patientenserums binden. Die gebundenen HLA-Antikörper werden durch einen Sekundärantikörper, der mit dem Fluoreszenzfarbstoff Phycoerythrin (PE) konjugiert ist, mit Hilfe von zwei Lasern im Luminexanalysegerät nachgewiesen [55]. Dabei detektiert der erste Laser den farbkodierten Mikropartikel und damit die HLA-Spezifität, der zweite Laser bestimmt die Höhe der Fluoreszenzintensität des PE-vermittelten Signals, welches direkt proportional zur Stärke des gebundenen Analyten ist [55]. Es gibt dabei sowohl die Möglichkeit des Screenings mit gepoolten Antigen-Panels zum Beispiel auf Vorhandensein oder Fehlen von HLA-Klasse I oder II Antikörpern als auch die

Möglichkeit mit hoch spezifischen Einzelantigen-Untersuchungen jede HLA-Spezifität zu bestimmen [55, 57]. Dabei sind die Mikropartikel mit rekombinannten Einzelallel-HLA-Antigenen beladen [57]. Auch der Nachweis von komplementbindenden Antikörpern gelingt über den Einzelantigentest. Dabei wird dem Patientenserum humanes C1q zugegeben, an welches der komplementbindende HLA-Antikörper bindet und wiederum durch einen PE-markierten Sekundärantikörper nachgewiesen wird (s. Abbildung 2) [54].



**Abbildung 2: Luminex HLA-Antikörper Screening**

(PE: Phycoerythrin)

Grafik nach Heinemann 2009 und Tait 2016 [54, 55]

### **2.4.3. HLA-Typisierung**

Die HLA-Typisierung bei Aufnahme auf die Warteliste wurde im Labor für Immungenetik und molekulare Diagnostik der Abteilung für Transfusionsmedizin, Zelltherapeutika und Hämostaseologie am Klinikum der Universität München durchgeführt. Die Daten zur HLA-Typisierung des Spenders (A, B, C, DR, DQB) wurden aus der Datenbank ENIS (Eurotransplant Network Information System) von Eurotransplant entnommen. Material zur Nachtestung des Spenders war nicht immer vorhanden. Die molekulargenetische Typisierung vom Spender wurde mittels SSP (Sequenz-spezifische Primer; Olerup SSP AB, Stockholm, Sweden) und vom Empfänger mittels SSO (sequenzspezifische Oligonukleotid-Sonden; LabType SS0, One lambda, Canoga Park, CA, USA) aus zwei unabhängigen Proben durchgeführt, um die jeweiligen Spezifitäten für HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DRB3, -DRB4, DRB5, DQB1 zu bestimmen.

#### Testprinzip:

Im Folgenden wird das Testprinzip der HLA-Genotypisierung mittels Luminex-Technologie beschrieben. Die farbkodierten Mikropartikel werden mit 55-Gensonden beladen, mit deren Hilfe dann die entsprechenden Allele der Proben-DNA erkannt werden können [55]. Nach der PCR-Amplifikation im Bereich der Zielsequenz der Proben-DNA werden die PCR-Produkte markiert (biotinyliert), damit der Sekundärantikörper mit Fluoreszenzfarbstoff daran binden kann [55]. Nachdem die PCR-Produkte denaturiert wurden, binden sie nun an die komplementäre DNA auf den Mikropartikeln und die Fluoreszenzintensität jedes Mikropartikels kann im Luminex Gerät analysiert werden [55].

## **2.5. Präemptive CMV-Therapie**

Der CMV-Serostatus wurde vor der Transplantation beim Empfänger und beim Spender über die Messung von IgG-Antikörpern gegen CMV bestimmt. Daraufhin ergaben sich mehrere mögliche Konstellationen zwischen Empfänger und Spender: Empfänger und Spender positiv (E+/S+) bzw. negativ (E-/S-), Empfänger positiv und Spender negativ (E+/S-) und Empfänger negativ und Spender positiv (E-/S+). Alle Patienten erhielten anfangs eine präemptive Therapie mit Aciclovir.

Nach der Transplantation wurden alle Patienten wöchentlich und später bei allen Kontrolluntersuchungen mittels PCR auf das Vorliegen einer CMV-Infektion oder einer CMV-Reaktivierung getestet. Daraufhin wurde im Falle einer Virämie eine antivirale Therapie mit Valganciclovir eingeleitet. Bei ausbleibendem Therapieerfolg erfolgte die Behandlung mit Ganciclovir oder Foscarnet intravenös. Bei anhaltender Virämie unter Ganciclovir wurden gegebenenfalls spezifische Immunglobuline gegen Cytomegalievirus (50mg pro Kilogramm Körpergewicht) intravenös verabreicht. Außerdem wurde bei einer CMV-Infektion MMF zunächst reduziert und dann gegebenenfalls vorübergehend pausiert.

## **2.6. Definition und Therapie von akuten zellulären Abstoßungen**

Eine akute zelluläre Abstoßung wurde mittels transbronchialer Biopsie im Rahmen einer Bronchoskopie gemäß der 2007 überarbeiteten Kriterien der Lung Rejection Study Group diagnostiziert [46]. Die akute Abstoßung A beruht auf dem Nachweis von perivaskulären und interstitiellen mononukleären Infiltraten und wird in folgende Abstoßungsgrade unterteilt [46] (s. Tabelle 2):

<b>Grad</b>	<b>Akute Abstoßung</b>
A0	Keine
A1	Minimal
A2	Mild
A3	Moderat
A4	Schwer

**Tabelle 2: Einteilung der akuten Abstoßung A gemäß der Kriterien der Lung Rejection Study Group [46]**

Die akute Abstoßung umfasst auch die Entzündung der kleinen Atemwege, die als lymphozytäre Bronchiolitis bezeichnet wird [46]. Diese darf erst nach Ausschluss einer begleitenden Infektion gestellt werden und wird in der B-Klassifikation zusammengefasst [46] (s. Tabelle 3).

<b>Grad</b>	<b>Lymphozytäre Bronchiolitis</b>
B0	Keine
B1R	Low grade
B2R	High grade
BX	Einteilung nicht möglich

**Tabelle 3: Einteilung der akuten Abstoßung B gemäß der Kriterien der Lung Rejection Study Group [46]**

(R: überarbeitete Kategorie im Vergleich zur ursprünglichen Einteilung aus dem Jahr 1996)

Die ACR  $\geq$  A2 wurde mit einer Tagesdosis von 500mg Methylprednisolon an 3 aufeinanderfolgenden Tagen behandelt. Bei Vorliegen von A = 1 erfolgte die Behandlung abhängig vom klinischen Zustand des Patienten. Eine alleinige lymphozytäre Bronchiolitis (Grad B) wurde nur dann mittels Steroidstoßtherapie behandelt, wenn gleichzeitig eine Transplantatdysfunktion vorlag (zum Beispiel Atemnot, neu aufgetretene radiologische Befunde, >10% Abfall der Baseline-FEV1 oder Hypoxämie).

## 2.7. Therapeutische Konsequenzen bei Nachweis von DSA

Patienten mit DSA und gleichzeitiger Transplantatverschlechterung, gekennzeichnet durch klinische Symptome wie Atemnot, neue radiologische Befunde, >10% Abfall der FEV1 oder Hypoxämie, wurden mit Rituximab ( $375 \text{ mg/m}^2$  Körperoberfläche) gefolgt von 6 Zyklen Plasmapherese über einen Zeitraum von zwei Wochen und mit intravenösen Immunglobulinen (50mg pro Kilogramm Körbergewicht) behandelt.

## 2.8. Immunsuppressives Regime

Alle Patienten erhielten nach der Transplantation eine immunsuppressive Dreifachtherapie als Erhaltungstherapie. Das Ziel der Erhaltungstherapie ist die Verhinderung einer akuten Organabstoßung [69]. Die in den meisten Fällen verwendete Dreifachtherapie beinhaltete

das Kortikosteroid Prednisolon, den Zellzyklusinhibitor MMF und den Calcineurininhibitor Tacrolimus. An Stelle von Tacrolimus wurde bei einigen Patienten auch der Calcineurininhibitor Cyclosporin A eingesetzt. Tacrolimus und Cyclosporin A haben ein enges therapeutisches Fenster und eine variable Pharmakokinetik und Bioverfügbarkeit [69]. Aus diesem Grund erfolgte die individuelle Dosisfestlegung nach Medikamentenspiegelbestimmung im Blut [34]. Der Zielspiegel von Tacrolimus lag im ersten halben Jahr nach der Transplantation bei 12-14 ng/ml, danach bei 10-12 ng/ml. Der Zielspiegel von Cyclosporin A lag anfangs bei 180-200 ng/ml und dann bei 160-180 ng/ml. Im Falle von Tacrolimus-assoziierten Nebenwirkungen, wie dem Tacrolimus induzierten posterior reversiblen Enzephalopathie Syndrom (PRES), wurde eine Umstellung auf Cyclosporin A vorgenommen. Einige Patienten erhielten einige Monate nach der Transplantation zusätzlich den mTOR-Inhibitor Everolimus, einhergehend mit einer Reduktion der Calcineurin-Dosis, um eine fortschreitende Niereninsuffizienz zu verhindern. Die Zieltagesdosis von MMF lag bei 2g. Die Dosis von Prednisolon lag nach der Zeit auf der Intensivstation bei 15mg pro Tag. Im ersten Jahr erfolgte bereits die schrittweise Reduktion auf eine Erhaltungsdosis von 5mg Prednisolon.

Im Falle einer Leukopenie, einer CMV-Infektion mit entsprechender antiviraler Behandlung oder anderen länger andauernden infektiologischen Komplikationen wurde MMF reduziert oder vorübergehend abgesetzt [7, 34].

## **2.9. Monitoring der Transplantatfunktion**

Die Messungen der Lungenfunktion und die Blutgasanalysen (BGA) wurden gemäß der Richtlinien der European Respiratory Society durchgeführt [70].

In der Lungenfunktion wurde bei jedem Patienten unter anderem die Vitalkapazität (vital capacity; VC), also das maximal mobilisierbare Lungenvolumen und das forcierte Expirationsvolumen in einer Sekunde (FEV1) ausgewertet. Des Weiteren wurde der Sauerstoffpartialdruck, der in der BGA bestimmt wurde, verglichen.

Eine Lungenfunktionsmessung und eine BGA wurden bei jedem Patienten regelmäßig bei allen Kontrolluntersuchungen durchgeführt.

### 2.9.1. Definition von BOS und CLAD

Unter einem Bronchiolitis obliterans Syndrom versteht man eine verzögert einsetzende Transplantatdysfunktion frühestens 3 Monate nach der Transplantation, die sich durch einen irreversiblen Abfall der FEV1 auszeichnet [44]. Dieser FEV1 Verlust darf nicht durch andere reversible Ursachen wie akute Abstoßung, Infektion, Anastomosenstenose sowie Pleuraerkrankungen erklärbar sein [42, 44]. Der Bestwert der FEV1 berechnet sich aus dem Durchschnitt der jeweiligen zwei besten Werte, die mindestens in einem Abstand von 3 Wochen erreicht wurden [44]. Dieser individuelle Referenzwert (auch Baseline-FEV1 genannt) muss gegebenenfalls im Lauf der Zeit neu berechnet werden, wenn sich die FEV1 des Patienten verbessert [9]. BOS wird diagnostiziert im Falle eines signifikanten Abfalls der FEV1, der mindestens 3 Wochen Bestand hat [9]. Bei einem Abfall der FEV1 zwischen 10% und 19% und/oder einem Abfall des maximalen mittleren exspiratorischen Flusses (maximal mid-expiratory flow; MMEF) um  $\geq 25\%$  spricht man von einem potentiellen BOS-Stadium (BOS 0p) [9]. Ab einem Abfall der FEV von  $> 20\%$  handelt es sich um ein BOS-Stadium 1 [9]. Die Definitionen der BOS-Stadien sind in nachfolgender Tabelle dargestellt (s. Tabelle 4). Ein Vorliegen von BOS wurde in dieser Studie ab einem Stadium  $\geq 1$  gewertet.

BOS-Stadium	Klassifikation
0	FEV1 $> 90\%$ vom Bestwert und MMEF <sub>25-75</sub> $> 75\%$ vom Bestwert
0p	FEV1 81%-90% vom Bestwert und/oder MMEF <sub>25-75</sub> $\leq 75\%$ vom Bestwert
1	FEV1 66%-80% vom Bestwert
2	FEV1 51%-65% vom Bestwert
3	FEV1 $\leq 50\%$ vom Bestwert

**Tabelle 4: Klassifikation der BOS-Stadien [9, 44]**

(*BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom, FEV1: forcierte Einsekundenkapazität, MMEF<sub>25-75</sub>: maximaler mittlerer exspiratorischer Fluss*)

Der Begriff CLAD, der in den letzten Jahren eingeführt wurde, bezeichnet jegliche Art der chronischen Transplantatdysfunktion [42]. Eine Hauptmanifestation davon ist das oben definierte BOS [42].

### **2.9.2. 6-Minuten Gehtest**

Zu Beginn und am Ende des Rehabilitationsaufenthaltes, der im Normalfall bei jedem Patienten circa 3 Monate nach der Transplantation stattfand, wurde ein 6-Minuten Gehtest durchgeführt. Dieser misst die Strecke, die ein Patient zügig über eine Dauer von 6 Minuten auf ebenem und hartem Untergrund zurücklegen kann [71]. Meistens wird ein 6-Minuten Gehtest vor und nach einer Intervention (in diesem Fall am Beginn und am Ende des Rehabilitationsaufenthaltes) durchgeführt, um gegebenenfalls eine Verbesserung feststellen zu können [71]. Diese Verbesserung wird normalerweise, so auch in dieser Arbeit, als absoluter Wert angegeben [71]. Der 6-Minuten Gehtest wurde gemäß der Richtlinien der American Thoracic Society durchgeführt [71].

## **2.10. Statistische Analyse**

Die statistische Auswertung wurde mit IBM SPSS Statistics Version 21 (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.) durchgeführt. Alle Mittelwerte wurden mit Standardabweichung (gekennzeichnet mit  $\pm$ ) angegeben. Für metrische Parameter wurde im Falle von normalverteilten Daten der t-Test bei unabhängigen Stichproben und im Falle von nicht normalverteilten Daten der Mann-Whitney-U-Test für zwei Stichproben angewandt. Die Testung auf Normalverteilung erfolgte entweder mittels Histogramm oder des Kolmogorow-Smirnow Tests. Um den Zusammenhang zwischen kategorialen Daten auszuwerten wurde der Chi-Quadrat Test verwendet. Hier wurde bei einer geringen Anzahl an Beobachtungen (erwarteter Wert  $n < 5$ ) der exakte Test nach Fisher genutzt. Für die Überlebenszeitanalysen wurde die Kaplan-Meier Methode verwendet. Die Überlebenszeiten wurden mit dem log-rank Test verglichen. Die Zeit bis zum Eintreten von BOS setzte sich zusammen aus der Zeit zwischen Transplantation und der erstmaligen

Diagnose von BOS. Außerdem wurde eine multivariate Analyse der Faktoren, die das Überleben der Patienten nach Transplantation beeinflussen, durchgeführt. Die Analyse enthielt Alter, Geschlecht von Spender und Empfänger, Diagnose, immunsuppressive Therapie sowie alle Faktoren, die in der univariaten Analyse (log-rank Test) mit einem p-Wert < 0,05 signifikant waren. Die multivariate Analyse basierte auf der proportionalen Hazardregression nach Cox mit einer Vorwärtsauswahl mittels Wald Test.

Für alle statistischen Tests wurde ein Signifikanzniveau von  $p<0,05$  verwendet.

### **3. ERGEBNISSE**

#### **3.1. Gesamtkollektiv**

Von Oktober 2013 bis Februar 2015 erhielten am Klinikum Großhadern 75 Patienten eine Lungentransplantation. Von diesen Patienten wurden drei Patienten, welche nach 5, 21 und 81 Tagen nach der Transplantation verstorben, nicht auf das Vorliegen von HLA-Antikörpern getestet und aus der Studie ausgeschlossen. Die Studienpopulation enthielt 72 Patienten mit einer durchschnittlichen Nachbeobachtungszeit von  $20 \pm 4,9$  Monaten (Median 21 Monate, mindestens 12 und maximal 28 Monate).

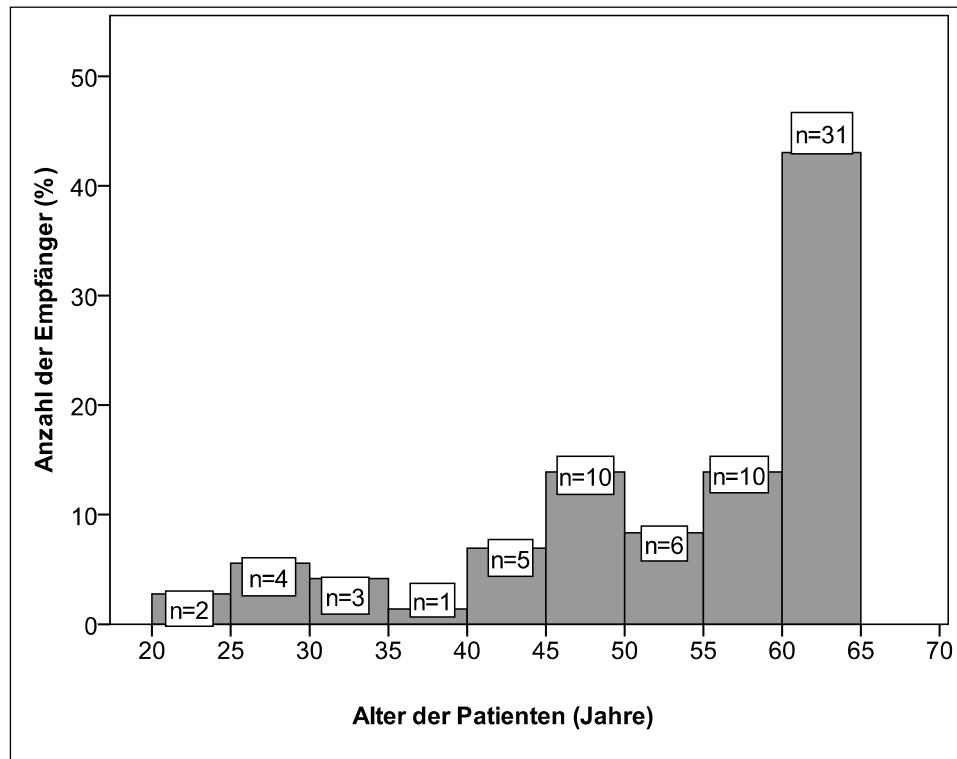
Das Patientenkollektiv setzte sich wie folgt zusammen:

<b>Alter (in Jahren)</b>	$52,6 \pm 11,8$
<b>Geschlecht</b>	
• Weiblich	33 (46%)
• Männlich	39 (54%)
<b>Operationsart</b>	
• DLTX	44 (61%)
• SLTX	27 (38%)
• Kombinierte Lungen- und Lebertransplantation	1 (1,4%)
<b>Grunderkrankung</b>	
• ILD	38 (53%)
• COPD	18 (25%)
• CF	7 (9,7%)
• Andere	9 (13%)
<b>BMI</b>	$23,5 \pm 3,9$
<b>Durchschnittliche Anzahl des HLA-Antikörper Screenings</b>	4,1 (mindestens 2 und maximal 5 mal)

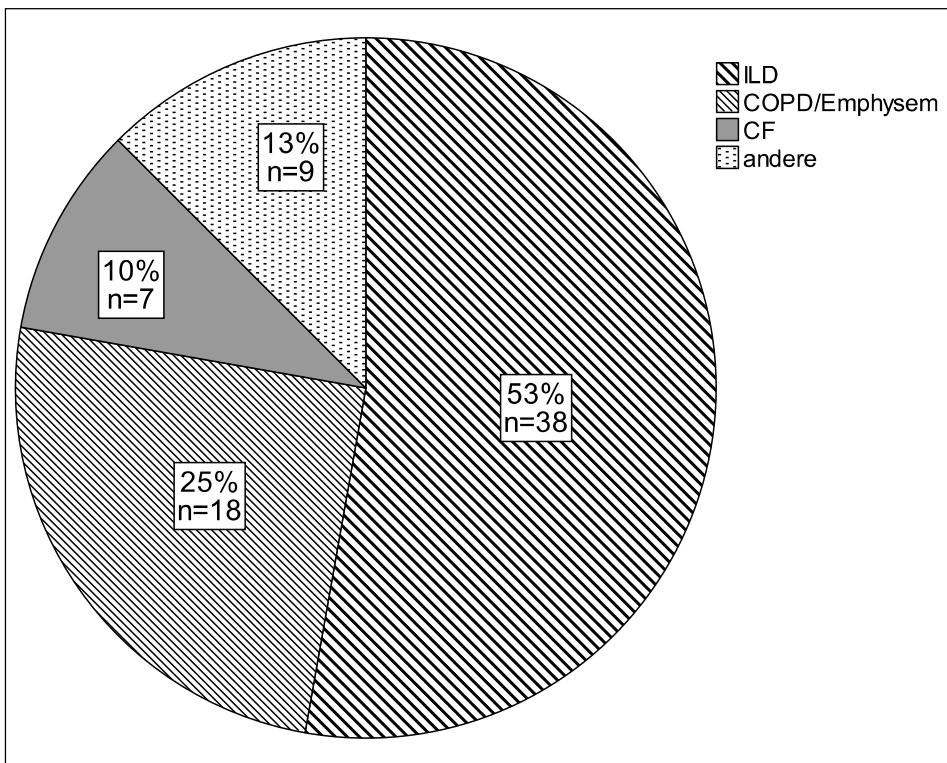
**Tabelle 5: Analyse der Transplantatempfänger im Studienkollektiv**

*Mittelwerte mit Standardabweichung bzw. Anzahl Patienten und Angaben in Prozent (DLTX: Doppelungentransplantation, SLTX: Einzellungentransplantation, ILD: interstitielle Lungenerkrankung, COPD: chronisch-obstruktive Lungenerkrankung, CF:*

*zystische Fibrose, BMI: Body Mass Index, andere: primär pulmonale Hypertonie, Fibroelastose, Lymphangioleiomyomatose, Sarkoidose)*



**Abbildung 3: Altersverteilung der Patienten**



**Abbildung 4: Verteilung der zugrundeliegenden Diagnosen im Gesamtkollektiv**

Angaben in Prozent bzw. Anzahl der Patienten (n: Anzahl, ILD: interstitielle Lungenerkrankung, COPD: chronisch-obstruktive Lungenerkrankung, CF: zystische Fibrose, andere: primär pulmonale Hypertonie, Fibroelastose, Lymphangioleiomyomatose, Sarkoidose)

Die häufigste Indikation für eine Lungentransplantation war eine ILD (53%), gefolgt von COPD (25%) und CF (9,7%). Die weiteren Indikationen verteilten sich auf primär pulmonale Hypertonie (n=2), Lymphangioleiomyomatose (n=4), Fibroelastose (n=1) und Sarkoidose (n=2) (s. Abbildung 4).

Die Grundcharakteristika der Spender sind in unten stehender Tabelle aufgeführt:

<b>Alter (in Jahren)</b>	$47,2 \pm 14,5$
<b>Geschlecht</b>	
• Weiblich	36 (50%)
• Männlich	36 (50%)
<b>BMI</b>	$24,7 \pm 2,6$
<b>Todesursache</b>	
• Subarachnoidalblutung	26 (36%)
• Schädelhirntrauma	17 (24%)
• Intrakranielle/Intrazerebrale Blutung	18 (25%)
• Andere	11 (15%)

**Tabelle 6: Grundcharakteristika der Spender im Studienkollektiv**

*Mittelwerte mit Standardabweichung bzw. Anzahl der Patienten und Angaben in Prozent  
(BMI: Body Mass Index, Subduralblutung, hypoxischer Hirnschaden, Hirnödem, Hirninfarkt)*

### 3.1.1. Statistischer Vergleich zwischen den Patientengruppen

Das Patientenkollektiv wurde hinsichtlich des Vorhandenseins von de novo DSA in die Gruppe de novo DSA negativ und de novo DSA positiv aufgeteilt. Innerhalb der de novo DSA positiven Patienten folgte eine weitere Aufteilung in die Gruppe der Patienten mit transienten und mit persistierenden de novo DSA (s. Kapitel 3.2).

Die Gruppen de novo DSA negativ und de novo DSA positiv sowie transiente de novo DSA und persistierende de novo DSA unterschieden sich nicht hinsichtlich ihres Alters, Geschlechts sowie BMI von Empfänger und Spender (s. Tabelle 7). Des Weiteren gab es keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Indikation zur Transplantation, der Operationsart (DLTX oder SLTX) und dem Vorhandensein einer pulmonalen Hypertonie (s. Tabelle 7). Ein Patient mit CF erhielt eine kombinierte Doppellungen- und Lebertransplantation. Für die statistischen Analysen wurde dieser Patient der Gruppe DLTX zugeordnet. Die Patienten wurden durchschnittlich viermal (mindestens zweimal,

bis auf einen früh verstorbenen Patienten) nach der Transplantation auf das Vorhandensein von HLA-Antikörpern getestet. Auch in der Anzahl der HLA-Testungen ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den oben genannten Gruppen (s. Tabelle 7).

	<b>DSA negativ n=49</b>	<b>DSA positiv n=23</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Alter Empfänger</b> (in Jahren)	$53,9 \pm 10,6$	$49,9 \pm 13,8$	0,312
<b>Geschlecht</b> Empfänger			
• Weiblich	24 (49%)	9 (39%)	0,434
• Männlich	25 (51%)	14 (61%)	
<b>Operationsart</b>			
• DLTX	30 (61%)	14 (61%)	0,744
• SLTX	19 (39%)	8 (35%)	
• Lungen- und Lebertransplantation	0	1 (4,3%)	
<b>Grunderkrankung</b>			
• ILD	26 (53%)	12 (52%)	0,996
• COPD	12 (25%)	6 (26%)	
• CF	5 (10%)	2 (9%)	
• andere	6 (12%)	3 (13%)	
<b>BMI</b>			
Empfänger	$23,4 \pm 3,8$	$23,6 \pm 4,1$	0,837
Spender	$24,9 \pm 2,6$	$24,3 \pm 2,9$	0,485
<b>Pulmonale Hypertonie</b> (Anzahl der Patienten)	24 (49%)	8 (35%)	1,000
<b>Durchschnittliche Anzahl des HLA-Antikörper Screenings</b>	$4,2 \pm 0,9$	$4,0 \pm 1,2$	0,298
<b>Alter Spender</b> (in Jahren)	$48,6 \pm 13,3$	$45,0 \pm 17,1$	0,712
<b>Geschlecht</b> Spender			
• Weiblich	25 (51%)	11 (48%)	
• Männlich	24 (49%)	12 (52%)	0,800

**Tabelle 7: Vergleich der Grundcharakteristika zwischen den Gruppen der de novo DSA negativen und positiven Patienten**

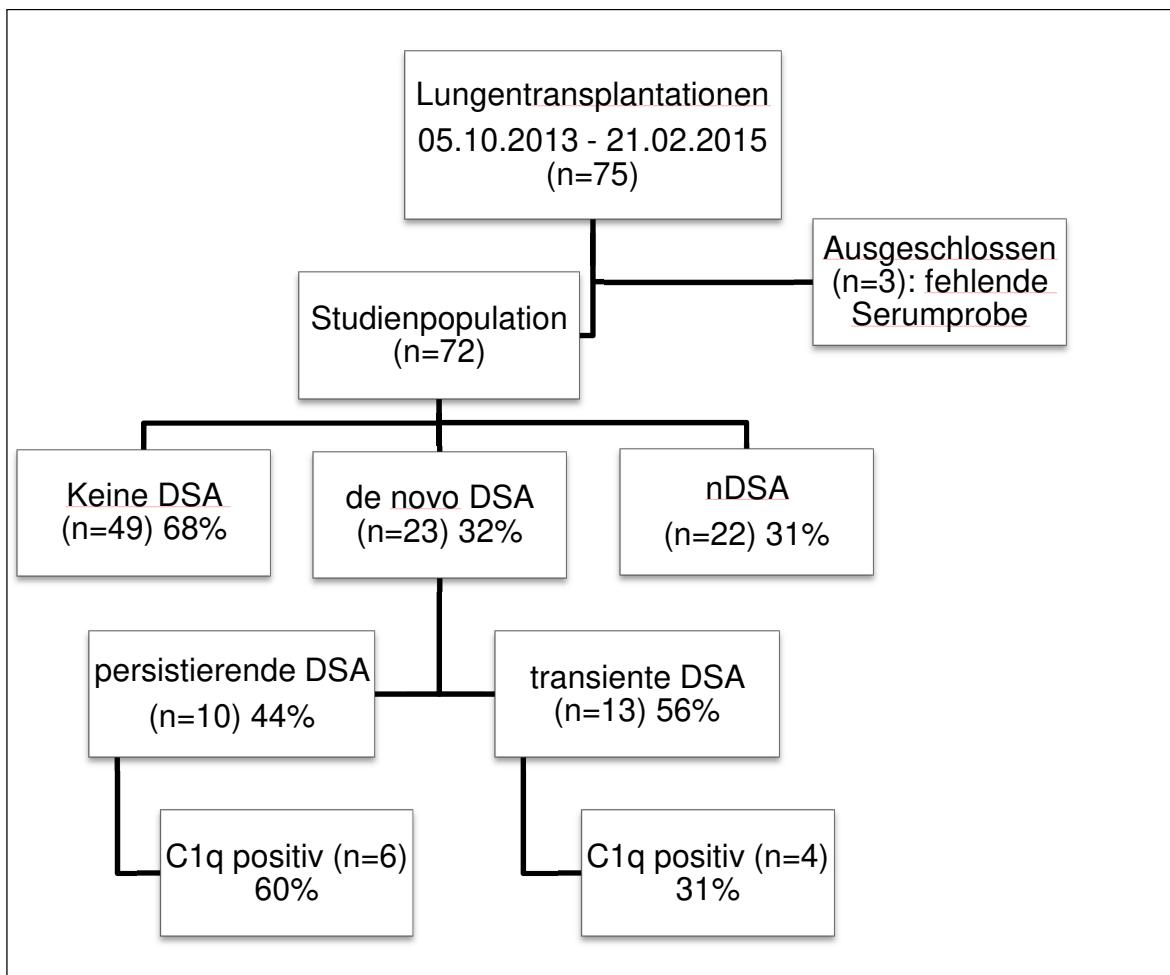
Mittelwerte mit Standardabweichung bzw. Anzahl der Patienten und Angaben in Prozent  
(DLTX: Doppelungentransplantation, SLTX: Einzellungentransplantation, COPD: chronisch-obstruktive Lungenerkrankung, ILD: interstitielle Lungenerkrankung, CF: zystische Fibrose, andere: s.Tabelle 5, BMI: Body Mass Index)

	<b>DSA transient n=13</b>	<b>DSA persistierend n=10</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Alter Empfänger (in Jahren)</b>	$45,9 \pm 16,4$	$55,2 \pm 7,3$	0,084
<b>Geschlecht Empfänger</b>			
• Weiblich	6 (46%)	3 (30%)	0,669
• Männlich	7 (54%)	7 (70%)	
<b>Operationsart</b>			
• DLTX	7 (54%)	7 (70%)	1,000
• SLTX	5 (38%)	3 (30%)	
• Lungen- und Lebertransplantation	1 (7,7%)		
<b>Grunderkrankung</b>			
• ILD	7 (54%)	5 (50%)	
• COPD	2 (15%)	4 (40%)	0,393
• CF	2 (15%)	0 (0%)	
• andere	2 (15%)	1 (10%)	
<b>BMI</b>			
Empfänger	$23,2 \pm 4,8$	$24,2 \pm 3,3$	0,572
Spender	$23,8 \pm 2,6$	$25,1 \pm 2,6$	0,784
<b>Pulmonale Hypertonie (Anzahl der Patienten)</b>	5 (38%)	3 (30%)	1,000
<b>Durchschnittliche Anzahl des HLA-Antikörper Screenings</b>	$4,3 \pm 0,9$	$3,5 \pm 1,4$	0,107
<b>Alter Spender (in Jahren)</b>	$40,7 \pm 17,5$	$50,6 \pm 15,7$	0,088
<b>Geschlecht Spender</b>			
• Weiblich	5 (38%)	6 (60%)	0,414
• Männlich	8 (62%)	4 (40%)	

**Tabelle 8: Vergleich der Grundcharakteristika zwischen den Gruppen der Patienten mit transienten und mit persistierenden DSA**

Mittelwerte mit Standardabweichung bzw. Anzahl der Patienten und Angaben in Prozent (DLTX: Doppelungentransplantation, SLTX: Einzellungentransplantation, COPD: chronisch-obstruktive Lungenerkrankung, ILD: interstitielle Lungenerkrankung, CF: zystische Fibrose, andere: s. Tabelle 5, BMI: Body Mass Index)

### 3.2. HLA-Antikörper

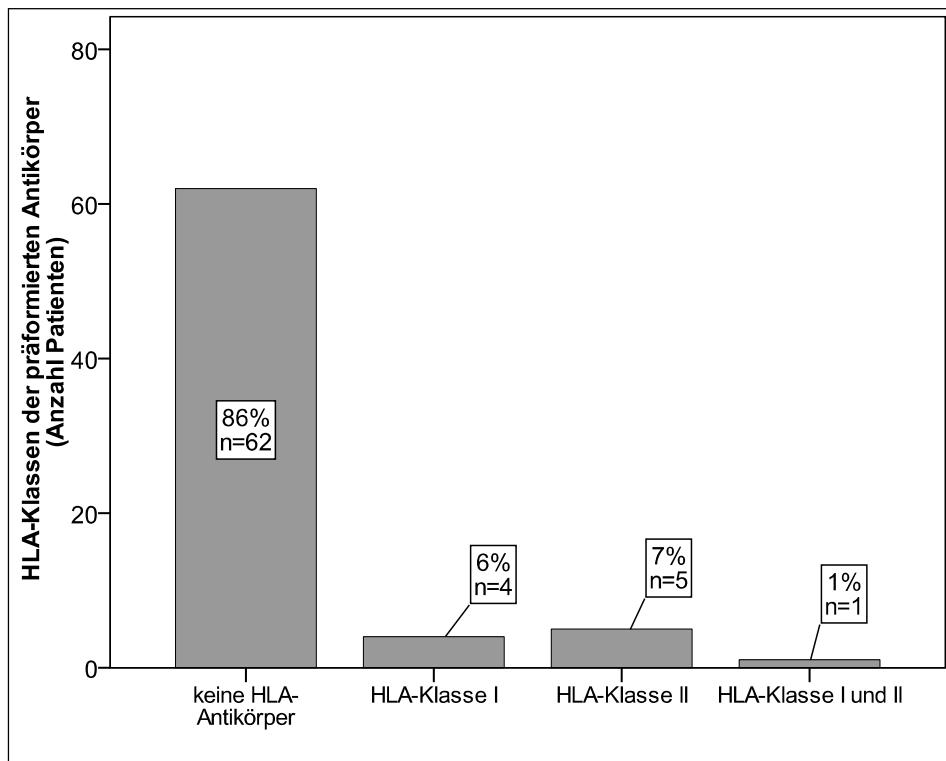


**Abbildung 5: Flow-Chart der Studienpopulation**

Anzahl der Patienten und Angaben in Prozent (DSA: donorspezifische Antikörper, nDSA: nicht-donorspezifische Antikörper)

#### 3.2.1. Präformierte HLA-Antikörper

Vor der Transplantation waren bei 10 Patienten (14%) präformierte HLA-Antikörper nachweisbar (s. Tabelle 9). Davon hatten 4 Patienten Antikörper gegen HLA-Klasse I (7%), 5 Patienten gegen HLA-Klasse II (8%) und ein Patient gegen HLA-Klasse I und II (s. Abbildung 6).



**Abbildung 6: HLA-Spezifitäten der präformierten Antikörper**

*Angaben in Prozent und Anzahl der Patienten*

Kein präformierter HLA-Antikörper war C1q-bindend. Zwei Patienten (3%) wurden mit schwachen donorspezifischen präformierten Antikörpern transplantiert, die nur im Luminex Analysegerät nachweisbar waren. Die entsprechenden Kreuzproben waren negativ. Bei einem Patienten persistierte der präformierte DSA auch nach der Transplantation. Bei insgesamt 5 Patienten waren präformierte HLA-Antikörper auch nach der Transplantation nachweisbar. Kein Patient mit präformierten Antikörpern verstarb während des Studienzeitraumes oder entwickelte eine akute zelluläre Abstoßung. BOS trat bei Patienten mit präformierten HLA-Antikörpern nicht häufiger auf als bei Patienten ohne präformierte HLA-Antikörper (20% (n=2) versus 12% (n=6); p=0,604). Fünf Patienten mit präformierten Antikörpern entwickelten postoperativ DSA. Somit hatten 23% (5/23) der Patienten mit DSA auch präformierte Antikörper im Vergleich zu 10% (5/49) der DSA negativen Patienten. Dies ergab keinen signifikanten Unterschied (p=0,268).

Patient Nummer (ID-Nummer)	Geschlecht	Diagnose	HLA-Spezifität der präformierten Antikörper	persistierend nach Transplantation	de novo DSA	BOS	FEV1 nach 12 Monaten	Überleben
1 (2)	W	ILD	DR4	Ja	Negativ	2 (272)	48%	Ja
2 (8)	W	CF	DQ2*	Nein	Negativ	1 (290)	38%	Ja
3 (11)	M	COPD	DR7	Ja	DQ3 DQ6	0	53%	Ja
4 (21)	W	ILD	A3 DR1 DR2 DR8 DR9 DQ1 DQ4	Ja	Negativ	0	91%	Ja
5 (28)	W	COPD	DQ1* DQ4 DQ7	Ja	DQ6	0	40%	Ja
6 (40)	W	ILD	B12	Nein	Negativ	0	96%	Ja
7 (46)	M	ILD	A26 A66	Ja	B44	0	53%	Ja
8 (59)	M	ILD	A1	Nein	DR53	0	86%	Ja
9 (66)	W	ILD	A11	Nein	Negativ	0	86%	Ja
10 (71)	M	ILD	DQ8	Nein	DQA1*05	0	48%	Ja

**Tabelle 9: Patienten mit präformierten HLA-Antikörpern**

Erläuterungen:

Patient Nummer: Identifikationsnummer im Studienkollektiv in Klammern

\* donorspezifischer präformierter HLA-Antikörper

(M: männlich, W: weiblich, ILD: interstitielle Lungenerkrankung, COPD: chronisch-obstruktive Lungenerkrankung, CF: zystische Fibrose, BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom, 0: kein BOS, 1: BOS Stadium 1, 2: BOS Stadium 2, in Klammern: Tage bis BOS nach Transplantation, FEV1: FEV1 Istwert in Prozent vom Sollwert nach 12 Monaten)

### **3.2.2. HLA-Antikörper nach der Transplantation**

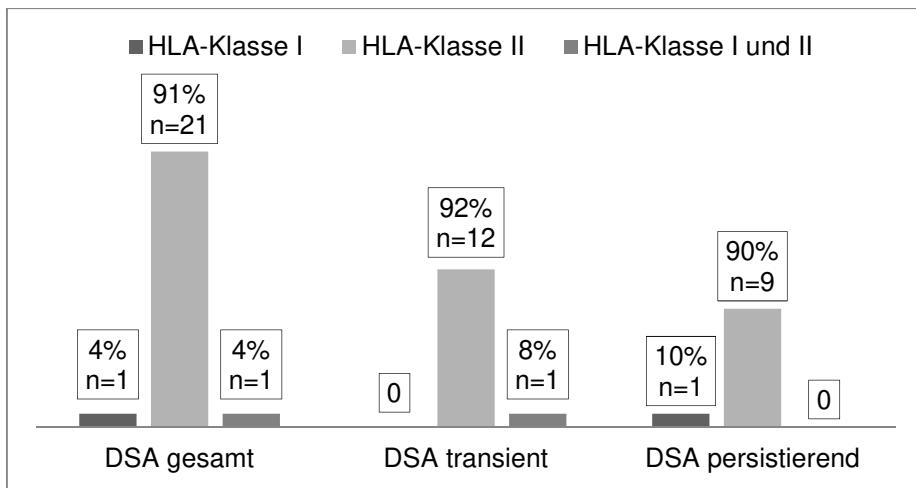
#### **3.2.2.1. Nicht donorspezifische HLA-Antikörper**

Insgesamt waren bei 43% (31/72) aller Patienten postoperativ HLA-Antikörper, sowohl nDSA als auch DSA, nachweisbar.

Bei 22 Patienten (31%) traten nach der Transplantation HLA-Antikörper auf, welche nicht donorspezifisch waren. Davon hatten 6 Patienten (27%) HLA-Klasse I Antikörper, 9 (41%) HLA-Klasse II Antikörper und 7 (32%) HLA-Klasse I und II Antikörper. Die Entwicklung von de novo nDSA hatte keinen Einfluss auf das kurzfristige Überleben dieser Patienten. Das erste Jahr nach der Transplantation überlebten 91% (20/22) der Patienten mit de novo nDSA im Vergleich zu 90% (45/50) der Patienten ohne de novo nDSA ( $p=1,000$ ). Auch die Gesamtüberlebensrate unterschied sich nicht (82%, 18/22 versus 82%, 41/50;  $p=1,000$ ).

#### **3.2.2.2. De novo donorspezifische HLA-Antikörper**

Bei 23 Patienten (32%) waren nach der Transplantation de novo DSA nachweisbar. Davon waren 91% (21/23) HLA-Klasse II Antikörper. Ein Patient (4%) hatte Klasse I Antikörper und ein Weiterer (4%) sowohl Klasse I als auch Klasse II Antikörper. Neunzig Prozent ( $n=20$ ) der Klasse II Antikörper entsprachen dem DQ-Isotyp. Innerhalb der persistierenden de novo DSA konnten 90% (9/10) der Klasse II und innerhalb der transienten de novo DSA 92% (12/13) der Klasse II zugeordnet werden (s. Abbildung 7). Die Fähigkeit den Komplementfaktor C1q zu binden hatten 43% (10/23) der de novo DSA, darunter waren 6 persistierende DSA und 4 transiente DSA ( $p=0,222$ ).



**Abbildung 7: HLA-Klassen der DSA gesamt und innerhalb der transienten und persistierenden DSA**

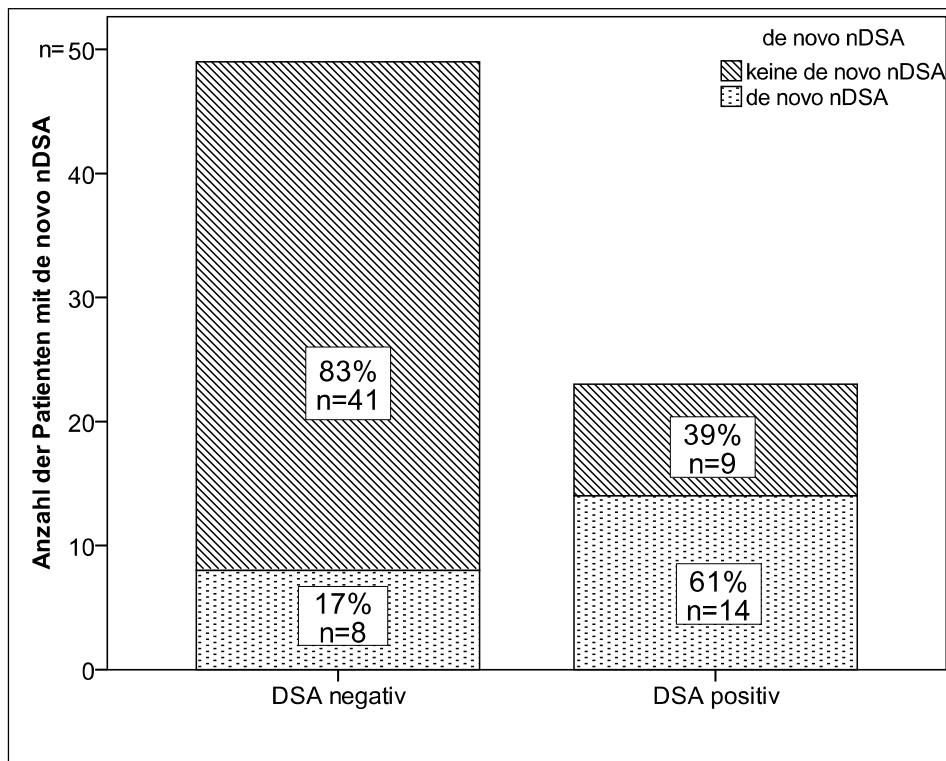
*Angabe in Prozent und Anzahl der Patienten*

Nicht donorspezifische Antikörper fanden sich signifikant häufiger bei DSA positiven Patienten (14/23; 61%) als bei DSA negativen Patienten (8/49; 17%;  $p<0,001$ ) (s. Abbildung 8). Zusätzlich war auch der vPRA-Wert bei DSA positiven Patienten signifikant höher (56,3% versus 4,3%,  $p<0,001$ ).

	DSA negativ	DSA positiv	p-Wert	DSA transient	DSA persistierend	p-Wert	gesamt
vPRA	4,3% $\pm$ 14,6%	56,3% $\pm$ 23,3	<0,001	51,0% $\pm$ 24,3%	63,3% $\pm$ 21,2%	0,257	21,5% $\pm$ 30,4%

**Tabelle 10: Vergleich der vPRA bei DSA positiven und negativen Patienten sowie bei Patienten mit transienten und persistierenden DSA**

*Angaben in Prozent mit Standardabweichung (vPRA: virtueller Prozentsatz der Panel-reaktiven Antikörper)*



**Abbildung 8: Anteil der de novo nDSA bei DSA positiven und negativen Patienten**

*Angaben in Prozent und Anzahl der Patienten*

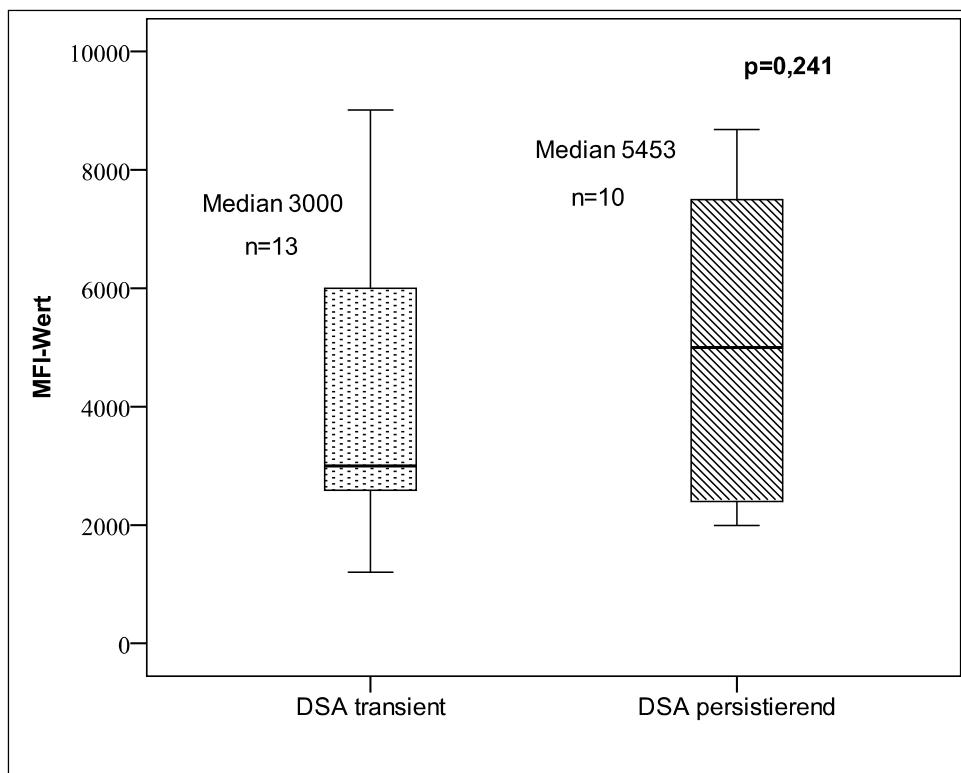
Am häufigsten traten DSA mit DQ-Spezifität auf (80%), 92% der transienten DSA und 64% der persistierenden DSA waren anti-DQ-Antikörper ( $p=0,068$ ). Es gab keinen Unterschied hinsichtlich des 1-Jahresüberlebens zwischen Patienten mit de novo DSA mit DQ-Spezifität und de novo DSA ohne DQ-Spezifität ( $p=1,000$ ).

DSA-Spezifikation	DSA positiv	DSA transient	DSA persistierend	p-Wert (DSA-DQ transient versus persistierend)
A	1	0	1	
B	2	1	1	
C	0	0	0	0,068
DR	2	0	2	
DQ	20	13	7	

**Tabelle 11: Vergleich der DSA-Spezifikationen bei DSA positiven Patienten sowie bei Patienten mit transienten und persistierenden DSA**

*Anzahl der vorkommenden DSA-Spezifikationen; Bei einem Patienten mit mehreren DSA-Spezifikationen sind beide getrennt aufgeführt*

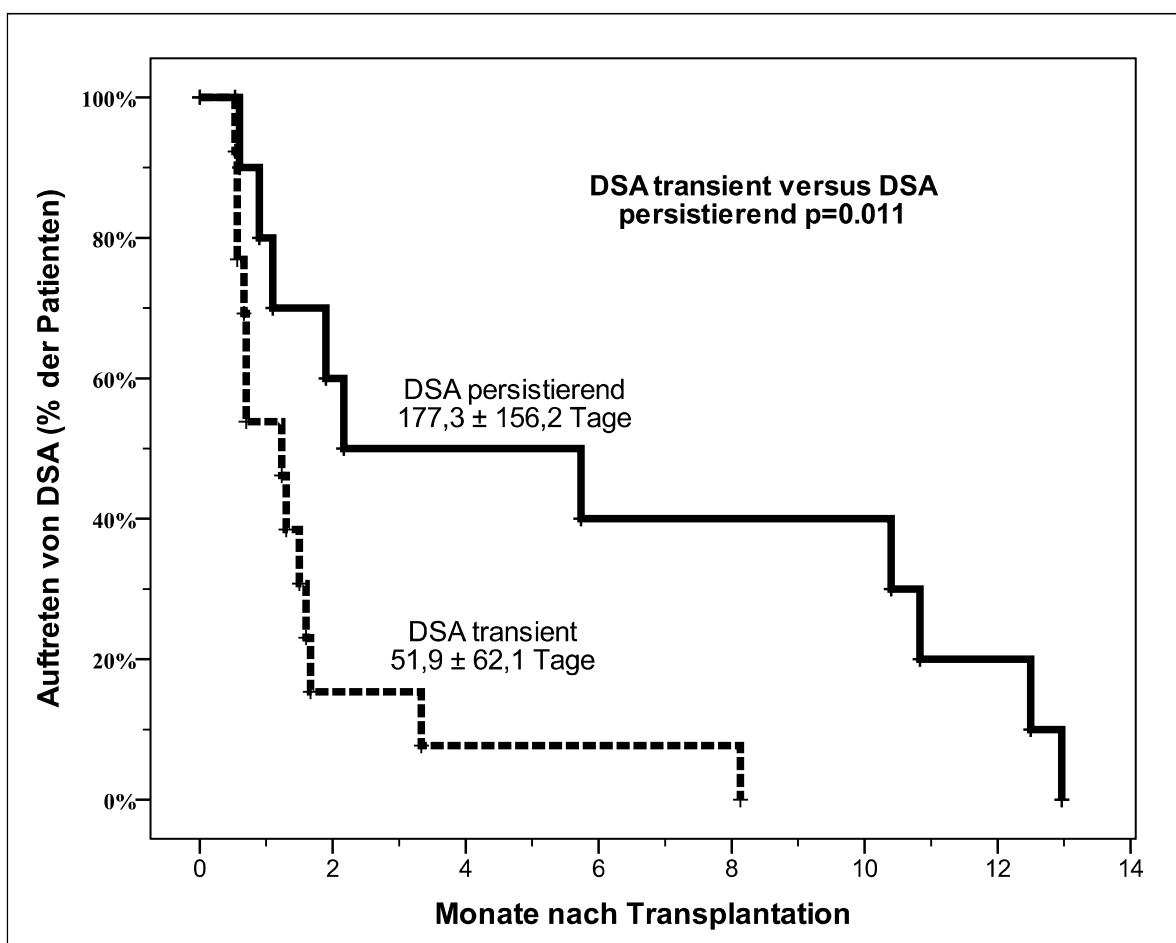
Die Signalstärke der DSA im Luminex Single-Antigen Test wurde anhand des MFI-Wertes bestimmt. Dabei lag der durchschnittliche MFI-Wert bei  $5751,7 \pm 5691,9$  (Median 5000,0). Der durchschnittliche MFI-Wert der persistierenden DSA war mit  $7370,8 \pm 799,3$  (Median 5453,0) nicht signifikant höher als der MFI-Wert der transienten DSA ( $4511,6 \pm 2760,2$ ; Median 3000,0;  $p=0,241$ ; s. Abbildung 9)



**Abbildung 9: Vergleich der MFI-Werte zwischen transienten und persistierenden DSA**

(MFI: mean fluorescence intensity)

Bei 13 von 23 Patienten mit de novo DSA waren diese nach einer medianen Zeit von 114 Tagen ( $154 \pm 101$  Tage; Min/Max 72-411 Tage) nicht mehr nachweisbar, wohingegen bei 10 Patienten die DSA während des kompletten Beobachtungszeitraums persistierten. Auffällig hierbei war, dass die transienten DSA zeitlich signifikant früher auftraten als die persistierenden DSA. Die transienten DSA waren erstmals nach einer medianen Zeit von 37 Tagen ( $52 \pm 62$  Tage, Min/Max 16-244 Tage) und die persistierenden DSA nach einer medianen Zeit von 119 Tagen ( $177 \pm 156$  Tage, Min/Max 18-389 Tage) nachweisbar (log-rank:  $p=0,011$ ; s. Abbildung 10). Die mediane Zeit bis zum Auftreten von DSA insgesamt betrug 48 Tage ( $120 \pm 133$ ).



**Abbildung 10:** Zeit bis zum ersten Nachweis von DSA bei den Patienten mit transienten und persistierenden DSA im Vergleich [72]

Fünf Patienten mit DSA und Transplantatversagen erhielten eine zielgerichtete Behandlung gemäß des Therapieprotokolls mit Rituximab, Plasmapherese und Immunglobulinen (s. Seite 38). Nach der Therapie waren bei allen behandelten Patienten die Antikörper weiterhin vorhanden. Es handelte sich somit um persistierende DSA. Drei Patienten sprachen nicht ausreichend auf die Therapie an und verstarben aufgrund eines Transplantatversagens (s. Tabelle 21).

### **3.3. Perioperative Daten**

#### **3.3.1. Ischämiezeit und Einsatz der ECMO**

Die Ischämiezeit des Spenderorgans betrug im Durchschnitt  $9h16min \pm 2h10min$ . Zwischen den jeweiligen Gruppen de novo DSA negativ und positiv sowie transiente und persistierende DSA ergab sich bezüglich der Ischämiezeit kein signifikanter Unterschied (s. Tabelle 12). Die Ischämiezeit bei den Patienten mit persistierenden DSA war im Mittel eine Stunde länger als bei den Patienten mit transienten DSA ( $p=0,234$ ).

Insgesamt erhielten 34 Patienten eine ECMO im Zeitraum während oder nach der Transplantation (s.Tabelle 12).

#### **3.3.2. Horowitz Index und Transfusionen**

Die lungentransplantierten Patienten hatten einen durchschnittlichen Horowitz Index von  $223,8 \pm 111,7$  mmHg nach der Operation (s. Tabelle 12). Dieser wurde nach Aufnahme auf der Intensivstation berechnet.

Um den immunogenen Einfluss von korpuskulären Transfusionen, also von Erythrozytenkonzentraten (EK) und Thrombozytenkonzentraten (TK) auf die Entwicklung von DSA zu beurteilen, wurde die Anzahl derartiger Transfusionen gezählt. Zudem wurde die Zahl der Transfusionen in 1-10 Transfusionen und >10 Transfusionen eingeteilt (Tabelle 12).

Die DSA positiven Patienten erhielten mit durchschnittlich 17,7 korpuskulären Transfusionen nicht signifikant mehr Transfusionen als DSA negative Patienten, die durchschnittliche 16,7 korpuskuläre Transfusionen bekamen ( $p=0,591$ ; s. Tabelle 12). Patienten, die länger als 14 Tage auf der Intensivstation behandelt wurden, erhielten signifikant mehr EKs und TKs ( $4,2 \pm 5,0$  versus  $27,3 \pm 31,0$ ;  $p<0,001$ ). Jedoch zeigte sich zwischen der Entwicklung von DSA und der Anzahl verabreichter Transfusionen keine signifikante Korrelation (s. Tabelle 12).

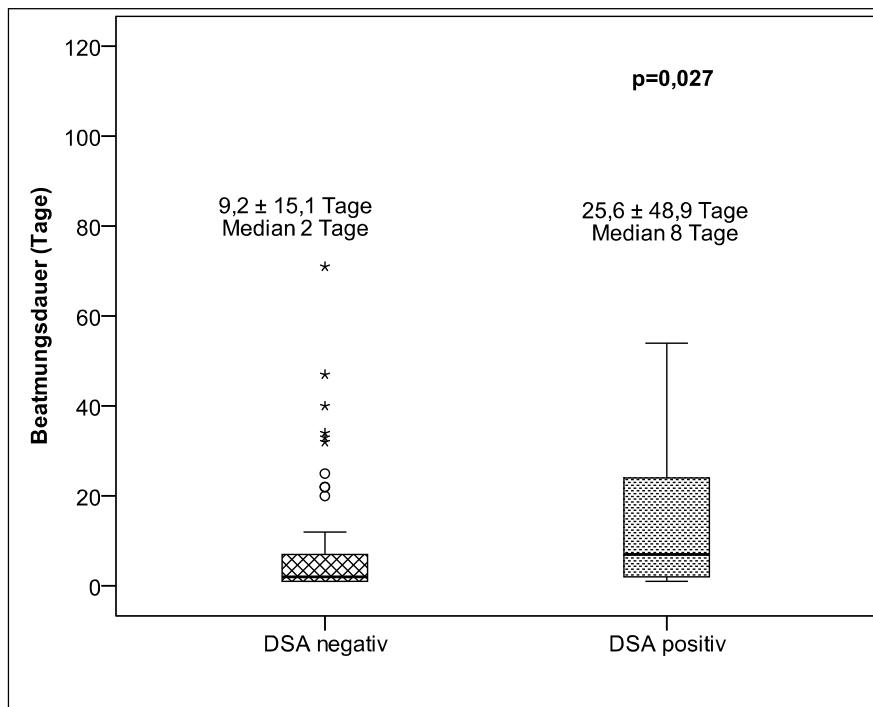
### **3.3.3. Beatmungszeit, Liegezeit auf der Intensivstation und stationäre Behandlungsdauer**

Die durchschnittliche Beatmungszeit auf der Intensivstation betrug  $14,6 \pm 31,2$  Tage (Median 3,0 Tage, Min/Max 1-222 Tage). DSA positive Patienten wurden postoperativ mit durchschnittlich  $25,6 \pm 48,9$  Tagen (Median 8,0 Tage, Min/Max 1-222 Tage) signifikant länger beatmet als DSA negative Patienten, welche durchschnittlich  $9,2 \pm 15,1$  Tage (Median 2,0 Tage, Min/Max 1-71 Tage;  $p=0,027$ ; s. Abbildung 11) beatmet wurden. Die Liegezeit auf der Intensivstation betrug bei allen Patienten durchschnittlich  $24,1 \pm 35,1$  Tage (Median 13,5 Tage, Min/Max 2-222 Tage), bei den DSA positiven Patienten  $33,3 \pm 47,2$  Tage (Median 17,0 Tage, Min/Max 4-222 Tage) und bei den DSA negativen Patienten nur  $19,6 \pm 26,8$  Tage (Median 8,0 Tage, Min/Max 2-136 Tage;  $p=0,027$ ; s. Abbildung 12).

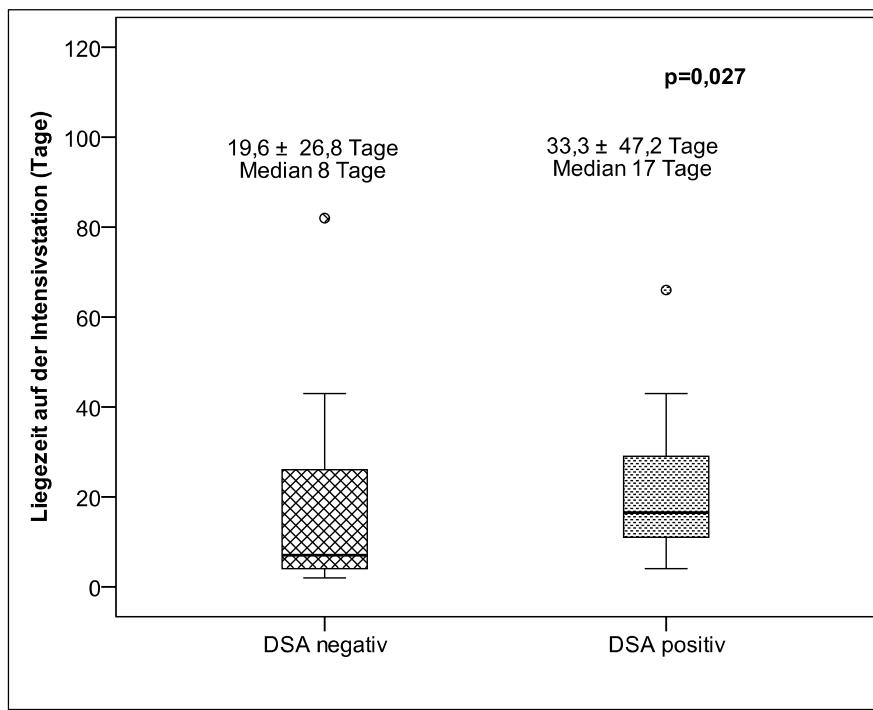
Noch deutlicher wurde der Unterschied bei Betrachtung von Patienten, die nach der Transplantation HLA-Antikörper entwickelten. Dazu gehörten sowohl DSA als auch nDSA. Hier betrug die durchschnittliche Beatmungszeit  $24,9 \pm 43,7$  Tage (Median 8,0 Tage, Min/Max 1-222 Tage) im Vergleich zu  $6,4 \pm 10,4$  Tagen (Median 2,0 Tage, Min/Max 1-47 Tage) bei HLA-Antikörper negativen Patienten ( $p=0,006$ ). Die Zeit auf der Intensivstation war ebenso mit durchschnittlich  $34,9 \pm 44,1$  Tagen (Median 20,0 Tage, Min/Max 4-222 Tage) bei HLA-Antikörper positiven Patienten signifikant länger als bei HLA-Antikörper negativen Patienten ( $15,5 \pm 23,1$  Tage, Median 6,0 Tage, Min/Max 2-136 Tage;  $p=0,001$ ).

Zwischen den Patienten mit persistierenden und transienten DSA ergab sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Beatmungszeit und der Intensivliegezeit.

Die gesamte stationäre Behandlung dauerte durchschnittlich  $57,5 \pm 55,0$  Tage (s. Tabelle 12).



**Abbildung 11: Vergleich der Beatmungsdauer in Tagen der DSA negativen und positiven Patienten [72]**



**Abbildung 12: Vergleich der Liegezeit auf der Intensivstation in Tagen der DSA negativen und positiven Patienten [72]**

	<b>gesamt</b>	<b>DSA negativ</b>	<b>DSA positiv</b>	<b>p- Wert</b>	<b>DSA transient</b>	<b>DSA persistierend</b>	<b>p- Wert</b>
<b>Ischämiezeit</b> (Stunden und Minuten)	9:16 ± 2:10	9:11 ± 2:20	9:24 ± 1:52	0,727	8:57 ± 1:58	9:55 ± 1:41	0,234
<b>ECMO</b> <b>perioperativ</b>	34 (45%)	25 (52%)	9 (47%)	0,728	7 (58%)	2 (29%)	0,350
<b>Horowitz Index</b> <b>postoperativ</b> (mmHg)	223,8 ± 111,7	213,3 ± 95,4	244,8 ± 139,4	0,320	265,6 ± 162,0	216,3 ± 104,3	0,462
<b>Beatmungszeit</b> (Tage)	14,6 ± 31,2	9,2 ± 15,1	25,6 ± 48,9	<b>0,027</b>	12,5 ± 15,2	42,6 ± 70,5	0,605
<b>Liegezeit</b> <b>Intensivstation</b> (Tage)	24,1 ± 35,1	19,6 ± 26,8	33,3 ± 47,2	<b>0,027</b>	21,9 ± 15,8	48,2 ± 68,4	0,784
<b>Dauer der stationären Behandlung</b> (Tage)	57,5 ± 54,9	55,6 ± 59,0	61,8 ± 45,8	0,128	53,8 ± 30,6	74,8 ± 63,7	0,547
<b>Korpuskuläre Transfusionen</b>							
• 1-10	25 (35%)	15 (42%)	10 (46%)	0,383	5 (42%)	5 (50%)	0,438
• >10	26 (36%)	15 (42%)	11 (50%)		7 (58%)	4 (40%)	
<b>Korpuskuläre Transfusionen</b> (gesamt)	17,7 ± 25,8	16,7 ± 27,3	17,7 ± 23,7	0,591	16,8 ± 26,7	18,4 ± 22,7	0,582

**Tabelle 12: Vergleich der perioperativen Daten der Patienten mit und ohne de novo DSA und der Patienten mit transienten und persistierenden DSA**

Mittelwert mit Standardabweichung bzw. Anzahl der Patienten und Angaben in Prozent  
(ECMO: extrakorporale Membranoxygenierung, PGD: Primary graft dysfunction)

	<b>Anti-HLA-AK negativ</b>	<b>Anti-HLA-AK positiv</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Ischämiezeit</b> (Stunden und Minuten)	9:03 ± 2:26	9:31 ± 1:49	0,244
<b>Beatmungszeit</b> (Tage)	6,4 ± 10,4	24,9 ± 43,7	<b>0,006</b>
<b>Intensivstation</b> (Tage)	15,5 ± 23,1	34,9 ± 44,1	<b>0,001</b>

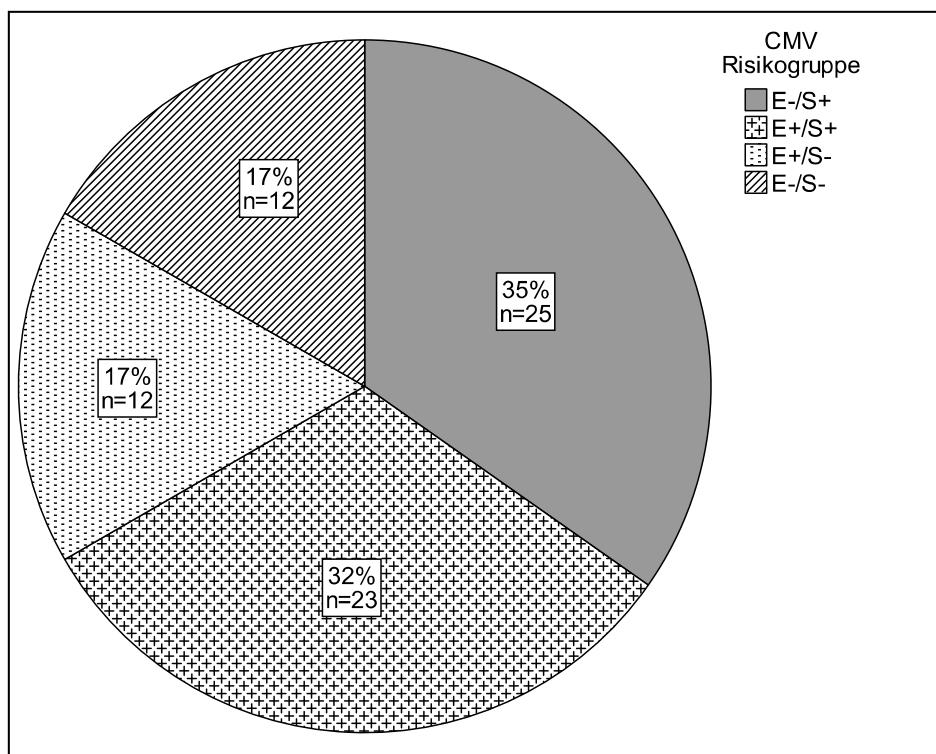
**Tabelle 13: Vergleich der perioperativen Daten der Patienten mit und ohne HLA-Antikörper**

*Mittelwert mit Standardabweichung (AK: Antikörper)*

### 3.4. CMV-Mismatch, CMV-Infektion, akute Abstoßung und Immunsuppression

#### 3.4.1. CMV-Mismatch

Insgesamt waren 35% (25/72) der Patienten in einer Hochrisikokonstellation, da der Empfänger CMV seronegativ und der Spender CMV seropositiv war. Diese Kombination lag am häufigsten vor. Bei 32% (23/72) der Patienten war sowohl der Empfänger als auch der Spender CMV positiv. Bei jeweils 12 Patienten (17%) lag entweder die Konstellation Empfänger positiv / Spender negativ oder Empfänger negativ / Spender positiv vor (s. Abbildung 13).



**Abbildung 13: CMV-Konstellation von Empfänger und Spender**

*Anzahl der Patienten und Angaben in Prozent (E: Empfänger, S: Spender, CMV: Cytomegalievirus)*

In der CMV-Hochrisikogruppe (Empfänger negativ / Spender positiv) waren 18 DSA negative (37%) und 7 DSA positive Patienten (30%). Zum statistischen Vergleich wurden alle CMV-Konstellationen außer der Hochrisikokonstellation zu einer Gruppe zusammengefasst. Es ergab sich kein signifikanter Unterschied ( $p=0,601$ ; s. Tabelle 14).

Auch die Gruppen der Patienten mit transienten (38% CMV-Hochrisikogruppe) und persistierenden DSA (20% CMV-Hochrisikogruppe) unterschieden sich nicht ( $p=0,405$ ).

	<b>DSA negativ</b>	<b>DSA positiv</b>	<b>p-Wert</b>	<b>DSA transient</b>	<b>DSA persistierend</b>	<b>p-Wert</b>	<b>gesamt</b>
<b>CMV Hochrisiko E-/S+</b>	18 (37%)	7 (30%)	0,601	5 (38%)	2 (20%)	0,405	25 (35%)
<b>CMV Niedrigrisiko</b>	31 (63%)	16 (70%)		8 (62%)	8 (80%)		47 (65%)
<i>CMV E+/S+</i>	16 (33%)	7 (30%)		3 (23%)	2 (20%)		23 (32%)
<i>CMV E+/S-</i>	11 (22%)	1 (4,3%)		0 (0%)	2 (20%)		12 (17%)
<i>CMV E-/S-</i>	4 (8,2%)	8 (35%)		5 (39%)	4 (40%)		12 (17%)

**Tabelle 14: CMV-Konstellationen der DSA negativen und positiven Patienten sowie der Patienten mit transienten und persistierenden DSA**

Anzahl der Patienten und Angaben in Prozent (Hochrisikogruppe enthält: CMV E-/S+, Niedrigrisikogruppe enthält: CMV E+/S+, E+/S-, E-/S-, E: Empfänger, S: Spender, CMV: Cytomegalievirus)

### 3.4.2. CMV-Diagnostik und Verlaufsbeobachtung

Mittels quantitativer PCR wurde bei allen Patienten die CMV-Viruslast regelmäßig nach der Transplantation bestimmt. Bei 38 Patienten (53%) wurde postoperativ mindestens einmal eine CMV-Infektion mittels PCR nachgewiesen. Dies war bei 39% ( $n=9$ ) der DSA positiven Patienten und 59% ( $n=29$ ) der DSA negativen Patienten der Fall ( $p=0,112$ ). Bei 5 Patienten kam es innerhalb von einer Woche nach dem Nachweis einer CMV-Infektion zur

Entwicklung von de novo DSA (s. Tabelle 21). Es bestand keine Korrelation zwischen dem Auftreten einer CMV-Infektion und dem Nachweis von DSA.

### **3.4.3. Akute zelluläre Abstoßung**

Mittels transbronchialer Biopsie im Rahmen der bronchoskopischen Nachuntersuchungen konnte bei 10 Patienten eine akute Abstoßung  $\geq A1$  nachgewiesen werden. Insgesamt wurde siebenmal eine akute Abstoßung A1, zweimal A2 und einmal A3 diagnostiziert.

Drei Patienten (14%) mit de novo DSA und 7 Patienten ohne DSA (15%) litten unter einer akuten Abstoßung  $\geq A1$  ( $p=1,000$ ). Darüber hinaus traten bei 2 Patienten eine akute Abstoßung und DSA gleichzeitig auf, bei einem Patienten folgte 5 Monate nach dem Auftreten der akuten Abstoßung A der Nachweis von DSA (s. Tabelle 21). Eine lymphozytäre Bronchiolitis trat bei 56% (40/72) der Patienten auf, darunter waren 13 (59%) DSA positive und 27 (59%) DSA negative Patienten ( $p=0,975$ ). Auch zwischen den Patienten mit transienten und persistierenden DSA gab es keinen signifikanten Unterschied (9/13, 70% versus 4/10, 31%;  $p=0,192$ ).

### **3.4.4. Immunsuppressive Therapie**

Nach der Transplantation erhielten 83% (60/72) der Patienten eine Tripel-Immunsuppression mit Tacrolimus und 17% (12/72) mit Cyclosporin A. Patienten, die eine immunsuppressive Therapie mit Cyclosporin A erhielten, entwickelten häufiger de novo DSA (6/23, 26%) als Patienten, die stattdessen Tacrolimus erhielten (6/49, 12%). Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant ( $p=0,180$ ). Bei 5 Patienten mit DSA im Vergleich zu 2 Patienten ohne DSA wurde in den ersten 3 Monaten von Tacrolimus auf Cyclosporin A gewechselt ( $p=0,030$ ; s. Tabelle 15 und Tabelle 21). Tacrolimus wurde bei Medikamenten induzierter Komplikationen (z. B. Tacrolimus induzierte posteriore reversible Enzephalopathie) durch Cyclosporin ersetzt.

	<b>DSA negativ</b>	<b>DSA positiv</b>	<b>p-Wert</b>	<b>DSA transient</b>	<b>DSA persistierend</b>	<b>p-Wert</b>	<b>gesamt</b>
Wechsel von Tac auf CyA	2 (4%)	5 (22%)	0,030	2 (15%)	3 (30%)	0,618	7 (9.7%)

**Tabelle 15: Wechsel des Immunsuppressionsschemas von Tacrolimus auf Cyclosporin A in den ersten 3 Monaten nach der Transplantation**

Anzahl der Patienten und Angaben in Prozent (Tac: Tacrolimus, CyA: Cyclosporin A)

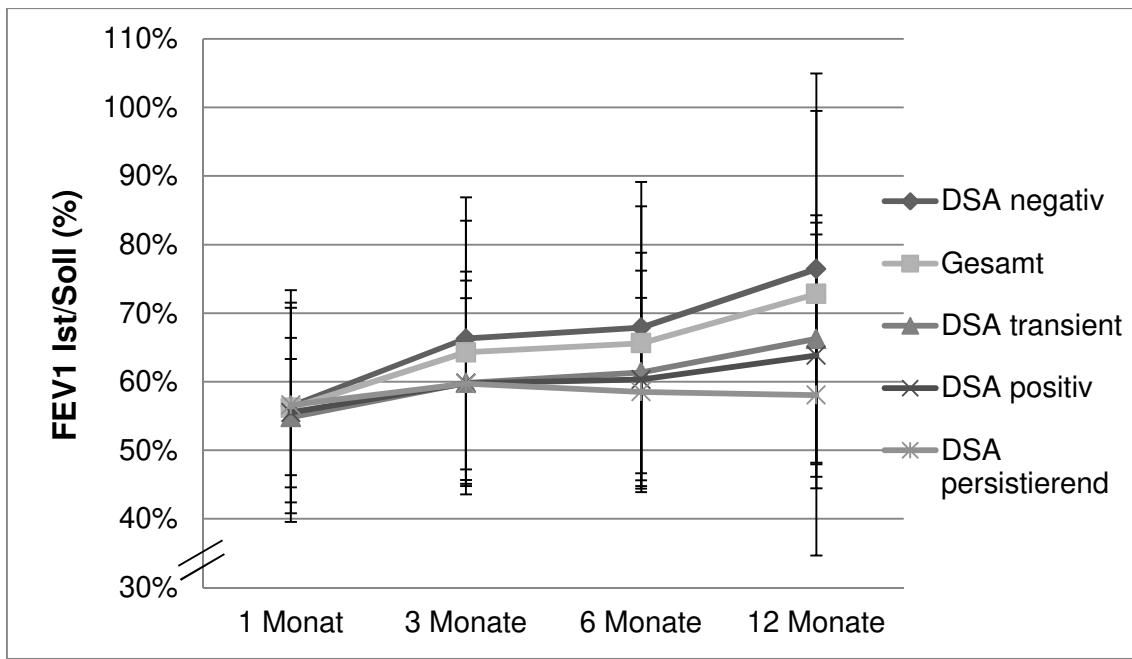
Im Falle einer Leukopenie oder bei Nachweis einer CMV-Infektion wurde die Medikation von MMF ausgesetzt. Dies war insgesamt bei 22 Patienten der Fall. Von diesen waren 16 Patienten (33%) DSA negativ und 6 Patienten (26%) DSA positiv ( $p=0,537$ ). Zwei Patienten entwickelten de novo DSA kurz nach Absetzen von MMF beziehungsweise in der Zeit in der MMF pausiert war (s. Tabelle 21).

Darüber hinaus wurde bei 26 Patienten (36%) rund 6 Monate nach der Transplantation das immunsuppressive Regime um einen mTOR-Inhibitor (Everolimus: n=24, Sirolimus: n=2) ergänzt und die Dosis des Calcineurininhibitors verringert. Dies war bei 19 DSA negativen (39%) und 7 DSA positiven (30%) Patienten der Fall ( $p=0,492$ ).

### 3.5. Lungenfunktion

#### 3.5.1. Vergleich der FEV1

Die Patienten erhielten in regelmäßigen Abständen eine Lungenfunktionsuntersuchung. Die Patienten ohne de novo DSA erreichten im ersten Jahr nach der Transplantation durchschnittlich die größte Steigerung der Lungenfunktion gemessen am Wert der FEV1 (von 56% auf 76%). Im Gegensatz dazu konnten die Patienten mit persistierenden DSA die FEV1 nach der Transplantation durchschnittlich von 57% nach einem Monat auf 58% nach 12 Monaten nur minimal steigern (s. Abbildung 14 und Tabelle 16). Der statistische Vergleich der FEV1 nach 12 Monaten zwischen den DSA negativen Patienten und den Patienten mit persistierenden DSA ergab jedoch keinen signifikanten Unterschied ( $p=0,190$ ).



**Abbildung 14: FEV1 (Istwert in Prozent vom Sollwert) bei DSA negativen und positiven Patienten sowie bei Patienten mit transienten und persistierenden DSA ein Monat, 3, 6 und 12 Monate nach der Transplantation**

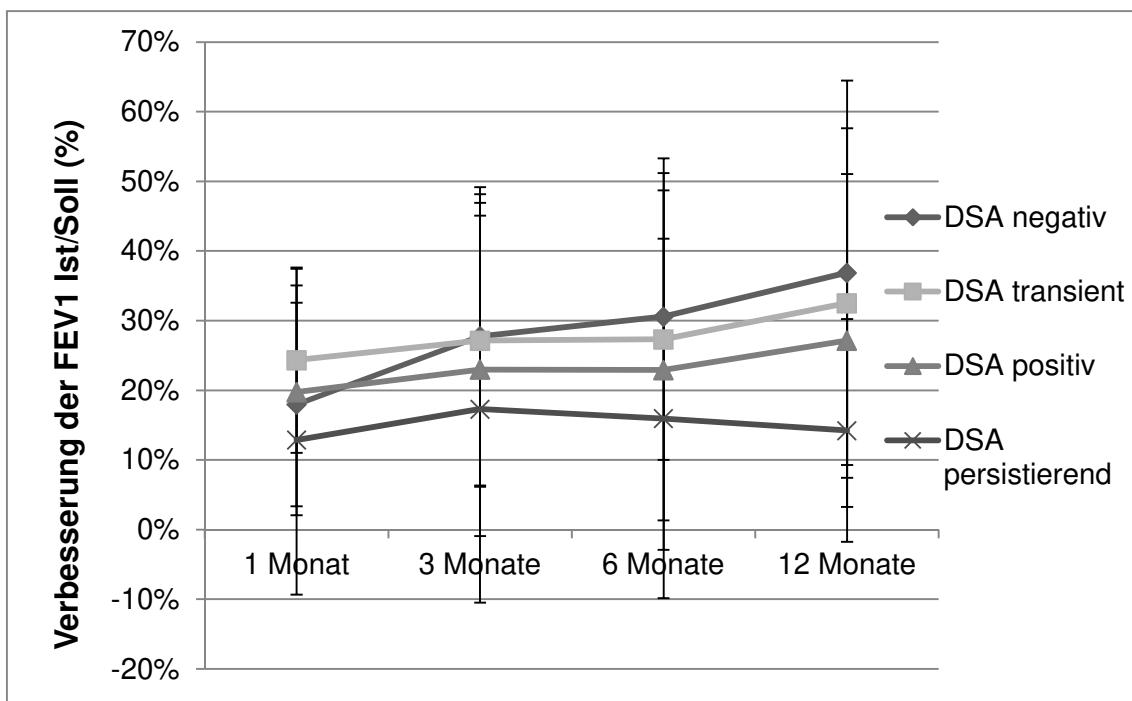
(FEV1: Forciertes exspiratorisches Volumen in der ersten Sekunde)

	1 Monat	3 Monate	6 Monate	12 Monate	p-Wert (Vergleich 12 Monate)
DSA negativ	56 ± 17	66 ± 21	68 ± 21	76 ± 29	0,106
DSA positiv	55 ± 11	60 ± 15	60 ± 16	64 ± 19	
DSA transient	55 ± 8	60 ± 12	61 ± 18	66 ± 18	0,574
DSA persistierend	57 ± 16	60 ± 19	59 ± 13	58 ± 23	
Gesamt	56 ± 15	64 ± 19	66 ± 20	73 ± 27	

**Tabelle 16: FEV1 (Istwert in Prozent vom Sollwert) bei DSA negativen und positiven Patienten sowie bei Patienten mit transienten und persistierenden DSA ein Monat, 3, 6 und 12 Monate nach der Transplantation**

Angaben in Prozent mit Standardabweichung (FEV1: Forciertes exspiratorisches Volumen in der ersten Sekunde)

Um den Verlauf der Lungenfunktion bei den Patienten genauer beurteilen zu können, wurde die Verbesserung des FEV1-Wertes (Istwert in Prozent vom Sollwert) im Vergleich zum letzten präoperativ gemessenen Wert berechnet (absolute Differenz zum letzten präoperativen Wert). Hierbei zeigte sich, dass sich die FEV1 bei Patienten mit persistierenden DSA 12 Monate nach der Transplantation im Mittel nur um 14% verbesserte, wohingegen sich DSA negative Patienten um 37% verbesserten ( $p=0,082$ ; s. Abbildung 15 und Tabelle 17).



**Abbildung 15: Entwicklung der FEV1 (Istwert in Prozent vom Sollwert) im Vergleich zum letzten präoperativen Wert bei DSA negativen und positiven Patienten und bei Patienten mit transienten und persistierenden DSA ein Monat, 3, 6 und 12 Monate nach der Transplantation**

*Angaben in Prozent mit Standardabweichung (FEV1: Forciertes exspiratorisches Volumen in der ersten Sekunde)*

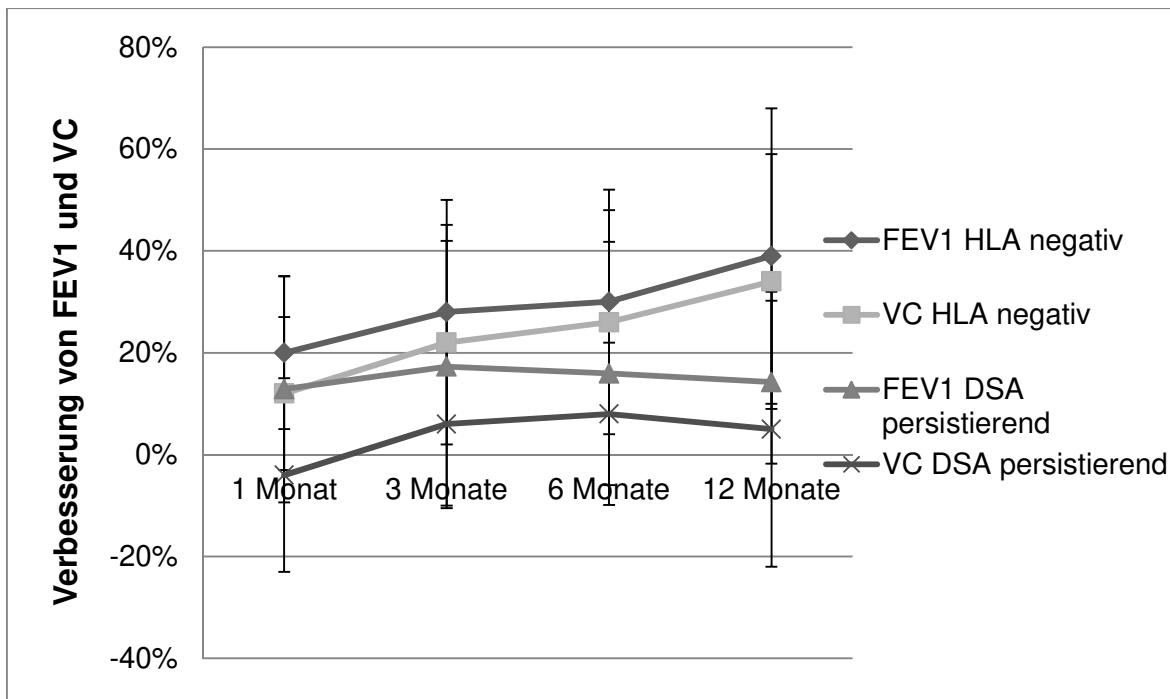
	<b>1 Monat</b>	<b>3 Monate</b>	<b>6 Monate</b>	<b>12 Monate</b>	<b>p-Wert</b> (Vergleich 12 Monate)
DSA negativ	18 ± 15	28 ± 21	31 ± 21	37 ± 28	
DSA positiv	20 ± 18	23 ± 24	23 ± 26	27 ± 24	0,207
DSA transient	24 ± 13	27 ± 21	27 ± 26	33 ± 25	
DSA persistierend	13 ± 22	17 ± 28	16 ± 26	14 ± 16	0,181

**Tabelle 17: Entwicklung der FEV1 (Istwert in Prozent vom Sollwert) im Vergleich zum letzten präoperativen Wert bei DSA negativen und positiven Patienten und bei Patienten mit transienten und persistierenden DSA ein Monat, 3, 6 und 12 Monate nach der Transplantation**

*Angaben in Prozent mit Standardabweichung (FEV1: Forciertes exspiratorisches Volumen in der ersten Sekunde)*

Ein deutlicher Unterschied zeigte sich im Vergleich der Patienten, die postoperativ keine HLA-Antikörper entwickelten zu den Patienten mit persistierenden DSA. Während sich die HLA-Antikörper negativen Patienten 12 Monate postoperativ im Mittel um 39% verbesserten (absolute Differenz zum letzten präoperativen Wert), war die Verbesserung der Patienten mit persistierenden DSA (14%) signifikant schlechter ( $p=0,031$ ; s. Abbildung 16 und Tabelle 17).

Darüber hinaus betrug die Verbesserung der Vitalkapazität nach 12 Monaten im Vergleich zum letzten präoperativen Wert bei HLA-Antikörper negativen Patienten im Mittel 34% und bei Patienten mit persistierenden DSA 5% ( $p=0,074$ , s. Abbildung 16 und Tabelle 18).



**Abbildung 16:** Entwicklung der FEV1 (Istwert in Prozent vom Sollwert) und Vitalkapazität (Istwert in Prozent vom Sollwert) im Vergleich zum letzten präoperativen Wert bei Patienten ohne HLA-Antikörper und Patienten mit persistierenden DSA [72]

Angaben in Prozent (FEV1: Forciertes exspiratorisches Volumen in der ersten Sekunde , VC: Vitalkapazität)

	1 Monat	3 Monate	6 Monate	12 Monate	p-Wert
FEV1 HLA negativ	20 ± 15	28 ± 22	30 ± 22	39 ± 29	0,031
FEV1 DSA persistierend	13 ± 22	17 ± 28	16 ± 26	14 ± 16	
VC HLA negativ	12 ± 15	22 ± 20	26 ± 22	34 ± 25	0,074
VC DSA persistierend	-4 ± 19	6 ± 16	8 ± 21	5 ± 27	

**Tabelle 18:** Entwicklung der FEV1 und Vitalkapazität bei Patienten ohne HLA Antikörper und bei Patienten mit persistierenden DSA

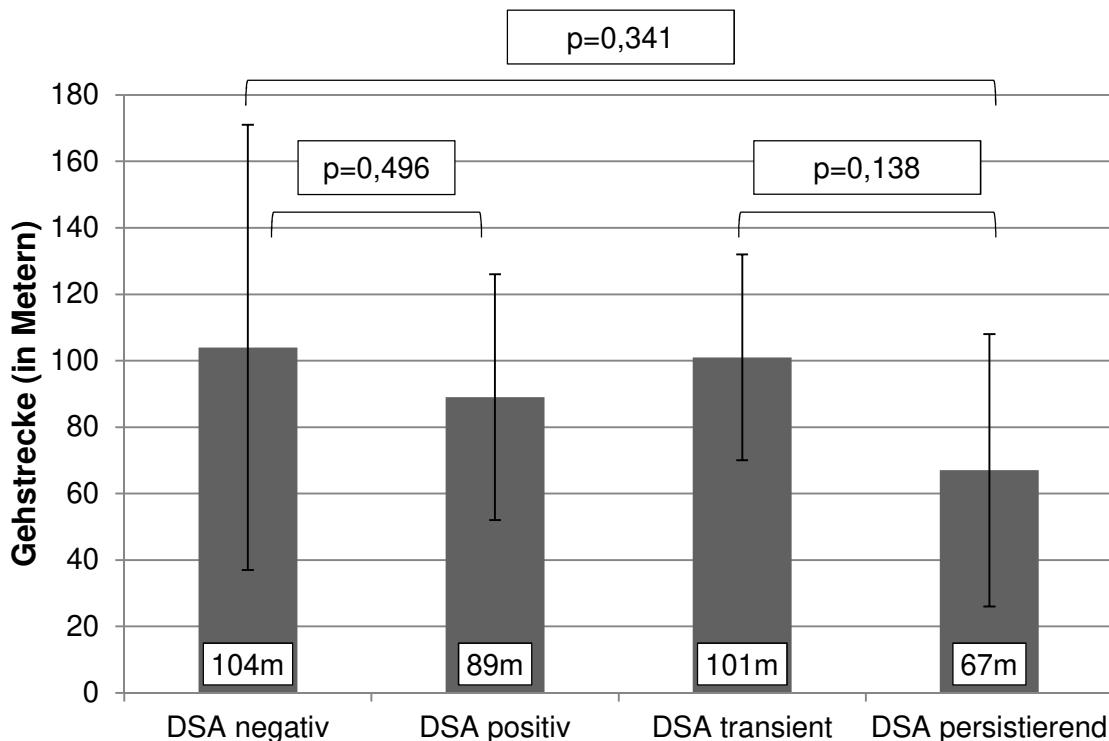
Angaben in Prozent mit Standardabweichung (FEV1: Forciertes exspiratorisches Volumen in der ersten Sekunde , VC: Vitalkapazität)

### **3.5.2. Vitalkapazität**

Die Vitalkapazität nach 12 Monaten betrug bei Betrachtung des Gesamtkollektivs im Durchschnitt  $73\% \pm 21\%$  (Istwert in Prozent vom Sollwert). Die DSA negativen Patienten erreichten mit  $77\% \pm 23\%$  den höchsten Wert. Im Vergleich zu den DSA positiven Patienten ( $65\% \pm 16\%$ ) war ein Trend zu einer besseren Vitalkapazität zu sehen ( $p=0,054$ ). Zwischen transienten und persistierenden DSA ergab sich kein signifikanter Unterschied der Vitalkapazität 12 Monate nach der Transplantation ( $66\% \pm 14\%$  versus  $62\% \pm 21\%$ ;  $p=0,684$ ).

### **3.6. 6-Minuten Gehtest nach dem Rehabilitationsaufenthalt**

Ein weiterer Parameter zur Beurteilung des funktionellen Ergebnisses nach der Lungentransplantation war die Analyse des 6-Minuten Gehtests, der während des Rehabilitationsaufenthaltes circa 3 Monate nach der Transplantation mehrmals durchgeführt wurde. Die Verbesserung der Gehstrecke im 6-Minuten Gehtest am Beginn und am Ende der Rehabilitation wurde verglichen. Im Durchschnitt verbesserten sich die Patienten um  $99 \pm 59$  Meter (27%). Die DSA negativen Patienten verbesserten sich um  $104 \pm 67$  Meter (28%) und DSA positiven Patienten um  $89 \pm 37$  Meter (24%) ( $p=0,496$ ). Die Patienten mit transienten DSA erreichten eine Verbesserung von  $101 \pm 31$  Metern (28%) im Vergleich zu  $67 \pm 41$  Metern (16%) bei den Patienten mit persistierenden DSA ( $p=0,138$ ; s. Abbildung 17).



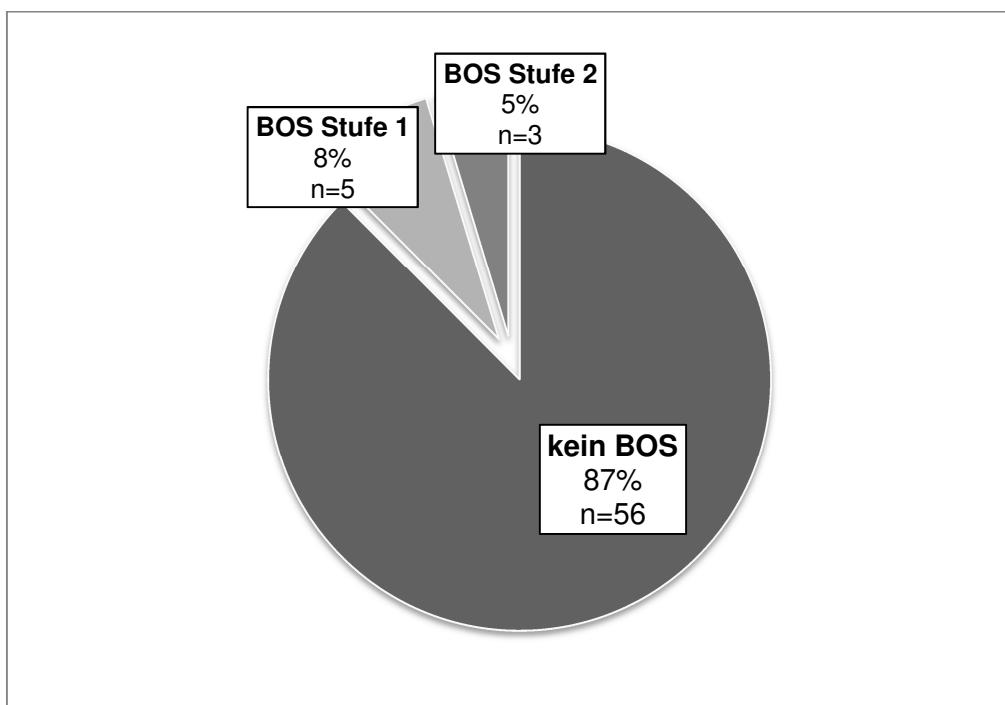
**Abbildung 17:** Verbesserung der Gehstrecke im 6-Minuten Gehtest zu Beginn und am Ende des Rehabilitationsaufenthaltes 3 Monate nach der Transplantation bei DSA negativen und positiven Patienten sowie bei Patienten mit transienten und persistierenden DSA

*Mittelwert mit Standardabweichung*

### 3.7. Bronchiolitis obliterans Syndrom

Zur Beurteilung des chronischen Transplantatversagens wurden die Patienten auf das Vorliegen eines Bronchiolitis obliterans Syndroms untersucht.

Im Beobachtungszeitraum entwickelten 8 Patienten (13%) BOS, darunter 5 Patienten (8%) mit BOS Stufe 1 und 3 Patienten (5%) mit BOS Stufe 2. BOS Stufe 3 trat in diesem Patientenkollektiv nicht auf (s. Abbildung 18.). Unter den 8 Patienten mit BOS waren 2 Patienten mit DSA (ein Patient mit transienten und ein Patient mit persistierenden DSA) und 6 Patienten ohne DSA ( $p=1,000$ ; s. Tabelle 19).



**Abbildung 18:** Verteilung der BOS-Stadien im gesamten Kollektiv

*Anzahl der Patienten und Angaben in Prozent (BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom)*

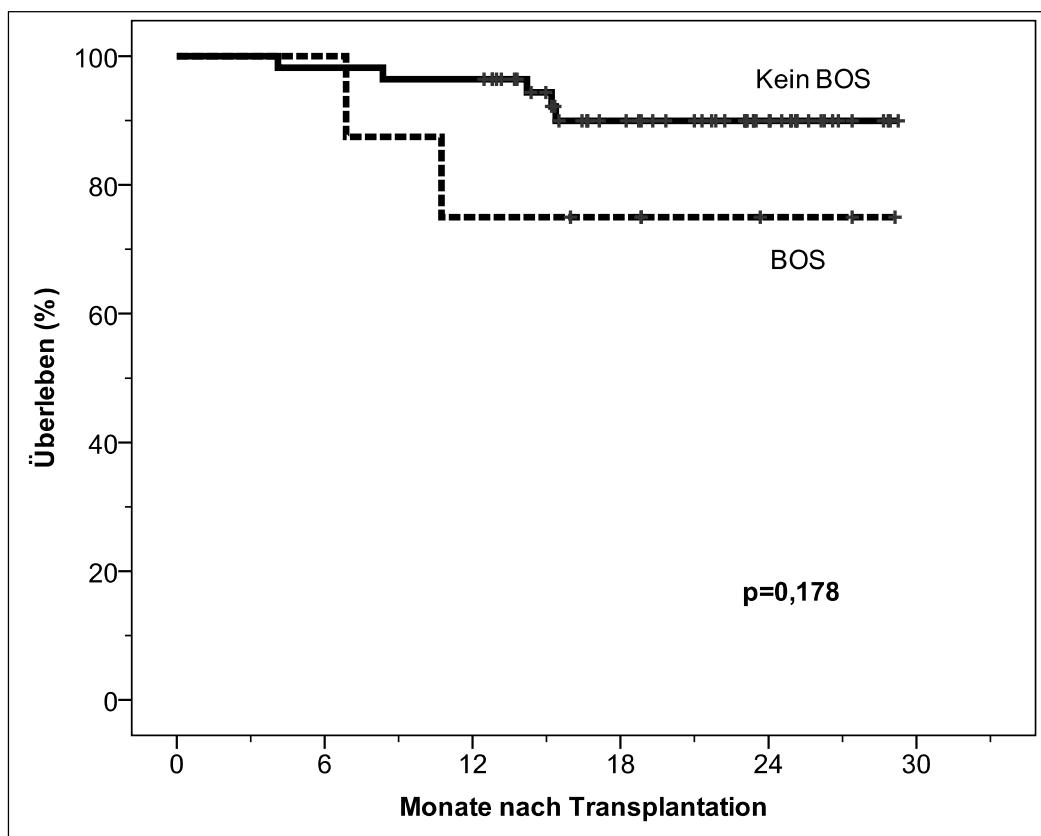
	DSA negativ	DSA positiv	DSA transient	DSA persistierend	Gesamt
kein BOS	38 (86%)	18 (90%)	12 (92%)	6 (86%)	56 (87%)
BOS Stufe 1	3 (6%)	2 (40%)	1 (8%)	1 (14%)	5 (8%)
BOS Stufe 2	3 (7%)	0	0	0	3 (5%)

**Tabelle 19:** BOS Stadien der DSA negativen und positiven Patienten sowie der Patienten mit transienten und persistierenden DSA

*Anzahl der Patienten und Angaben in Prozent*

BOS trat durchschnittlich  $265 \pm 146$  Tage nach der Transplantation auf. Die Zeit bis zum Auftreten von BOS betrug bei DSA positiven Patienten  $186 \pm 88$  Tage und bei DSA negativen Patienten  $291 \pm 158$  Tage ( $p=0,429$ ).

Das 1-Jahresüberleben betrug bei Patienten mit BOS 75% (6/8) im Vergleich zu 96% (54/56) bei Patienten, die kein BOS entwickelten ( $p=0,073$ ). Auch über den kompletten Beobachtungszeitraum hatten die Patienten mit BOS ein schlechteres Überleben (75% (6/8) versus 91% (51/56);  $p=0,209$ ). Die Überlebenszeitanalyse zeigte zwar ein schlechteres Überleben bei Patienten mit BOS, jedoch war der Unterschied nicht signifikant ( $p=0,178$ ; s. Abbildung 19)



#### Patienten unter Risiko:

Monate:	0	6	12	18	24	30
Kein BOS	56	55	54	34	16	0
BOS	8	8	6	5	2	0

**Abbildung 19: Überlebenszeitanalyse nach Transplantation bei Patienten mit BOS und ohne BOS**

(BOS: *Bronchiolitis obliterans Syndrom*)

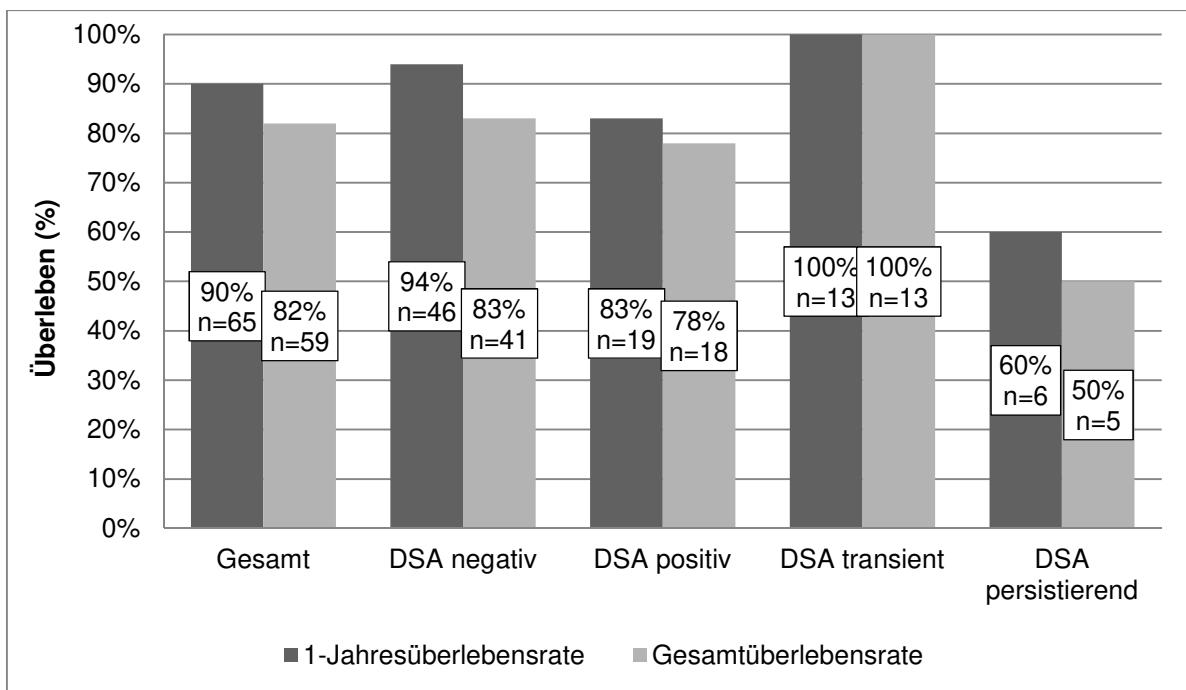
### **3.8. Überleben**

Das 1-Jahresüberleben der Patienten nach einer Lungentransplantation betrug insgesamt 90% (65/72). Bei Betrachtung des gesamten Beobachtungszeitraumes der Patienten von durchschnittlich 20 Monaten lag die Überlebensrate bei 82% (59/72; s. Abbildung 20).

#### **3.8.1. DSA und Überleben**

Die Patienten mit de novo DSA hatten eine 1-Jahresüberlebensrate von 83% (19/23) und die Patienten ohne de novo DSA eine 1-Jahres Überlebensrate von 94% (46/49;  $p=0,199$ ). Hinsichtlich des gesamten Beobachtungszeitraumes überlebten 78% (18/23) der DSA positiven und 83% (41/49) der DSA negativen Patienten ( $p=0,743$ ). Die 1-Jahresüberlebensrate von Patienten mit C1q-bindenden DSA betrug 80% (8/10) und von Patienten ohne C1q-bindende DSA 85% (11/13;  $p=1,000$ ). Auch die Gesamtüberlebensrate unterschied sich nicht (7/10, 70% versus 11/13, 85%;  $p=0,618$ ).

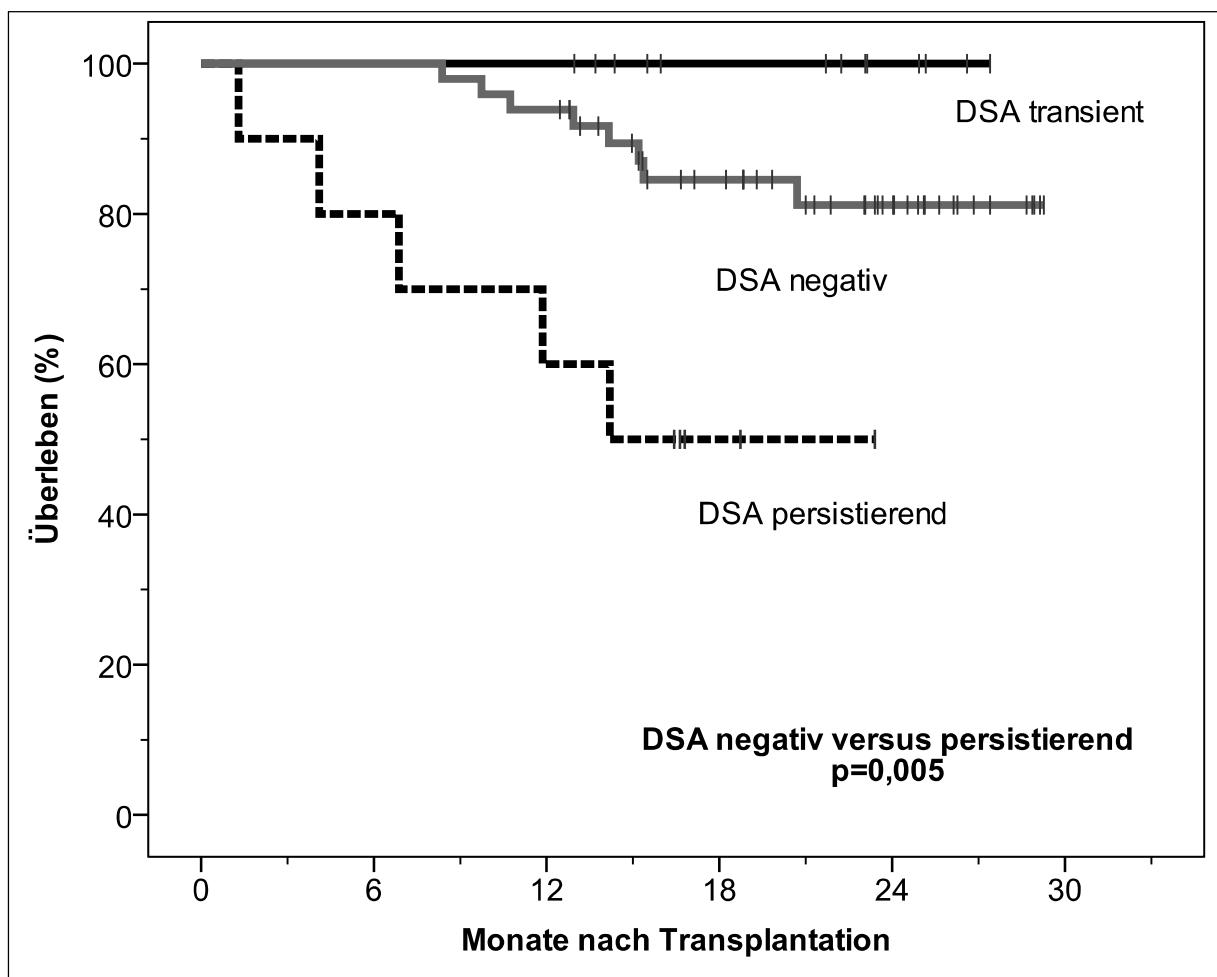
Auffallend ist, dass alle verstorbenen DSA positiven Patienten persistierende DSA hatten. Die 1-Jahresüberlebensrate der Patienten mit persistierenden DSA betrug 60% (6/10) beziehungsweise 50% (5/10) über den gesamten Beobachtungszeitraum. Im Gegensatz dazu lagen die 1-Jahresüberlebensrate und die Gesamtüberlebensrate der Patienten mit transienten DSA bei 100% (13/13). Der statistische Vergleich zwischen den beiden Gruppen ergab für das 1-Jahresüberleben ( $p=0,024$ ) und für das Gesamtüberleben ( $p=0,007$ ) ein signifikant schlechteres Überleben für Patienten mit persistierenden DSA (s. Abbildung 20).



**Abbildung 20: 1-Jahres- und Gesamtüberlebensrate (innerhalb der Nachbeobachtungszeit) aller Patienten, der DSA negativen und positiven Patienten sowie der Patienten mit transienten und persistierenden DSA**

*Anzahl der Patienten und Angaben in Prozent*

In der Überlebenszeitanalyse mittels Kaplan-Meier Verfahren zeigte sich ein signifikant schlechteres Überleben bei Patienten mit persistierenden DSA im Vergleich zu Patienten mit transienten DSA ( $p=0,005$ ) und zu Patienten ohne DSA ( $p=0,005$ ; s. Abbildung 21)



#### Patienten unter Risiko:

Monate:	0	6	12	18	24	30
DSA negativ	49	49	46	30	14	0
DSA transient	13	13	13	8	4	0
DSA persistierend	10	8	6	2	0	0

**Abbildung 21: Vergleich der Überlebenszeit zwischen Patienten ohne DSA, mit transienten und mit persistierenden DSA [72]**

Persistierende DSA konnten als starker unabhängiger Risikofaktor für schlechteres Überleben in der multivariaten Analyse identifiziert werden. Das Risiko zu versterben war bei Patienten mit persistierenden DSA um den Faktor 8,3 signifikant erhöht (HR 8,3; 95%-KI 1,8-37,0; p=0,006).

### 3.8.2. Todesursachen

Die Todesursachen und die Überlebenszeit der 13 verstorbenen Patienten im Studienkollektiv sind in unten stehender Tabelle aufgeführt (s. Tabelle 20).

Patient Nummer (ID-Nummer)	Überlebenszeit (Tage nach Transplantation)	Todesursache
1 (34)	39	Multiorganversagen (führend: Leber- und hypoxisches Lungenversagen)
2 (14)	123	hämorrhagischer Schock
3 (24)	206	Pneumonie, Sepsis und Multiorganversagen
4 (65)	251	Legionellose und Sepsis
5 (53)	292	Pleuraempyem, Pneumothorax mit persistierender Fistel,
6 (49)	322	Respiratorische Insuffizienz bei invasiver Aspergillose
7 (74)	356	Transplantatversagen
8 (58)	388	unbekannt
9 (50)	425	Respiratorische Insuffizienz und Nierenversagen
10 (48)	426	Septischer Schock und chronische Abstoßung
11 (42)	456	Septische Kardiomyopathie
12 (33)	461	Posttransplantationslymphom
13 (9)	621	unbekannt

**Tabelle 20: Todesursachen und Überlebenszeit aller verstorbenen Patienten**

*Überlebenszeit in Tagen*

Erläuterung:

Patient Nummer: Identifikationsnummer im Studienkollektiv in Klammern

### **3.9. Übersicht über alle Patienten mit de novo DSA**

Nachfolgend werden alle Patienten mit de novo DSA in einer Tabelle aufgeführt. Unter dem Punkt „Diagnosen“ werden auch Diagnosen genannt, die in den vorangegangenen Analysen als „Sonstige“ gewertet wurden (z.B. Lymphangioleimyomatose). Zum immunsuppressiven Regime (IMR) gehört auch immer Prednisolon als Bestandteil der Tripel-immunsuppressiven Therapie. Dies wurde aus Platzgründen nicht erwähnt. Des Weiteren bedeutet „C1q+“, dass ein donorspezifischer Antikörper C1q bindend war. Unter „Behandlung der DSA“ ist eine zielgerichtete Therapie gemeint, welche Patienten mit DSA und gleichzeitig vorliegender Verschlechterung der Transplantatfunktion (z.B. Atemnot, neu aufgetretene radiologische Befunde, >10% Verlust der Baseline-FEV1 oder Hypoxämie) erhielten. Ein Eintrag unter dem Punkt „Besonderheiten“ wurde gemacht, wenn bei einem Patienten nach einer CMV-Infektion oder nach einer mittels TBB diagnostizierten akuten Abstoßung A in direktem zeitlichen Zusammenhang DSA nachweisbar waren. Wenn bei einem Patienten nach dem Absetzen von MMF in engem zeitlichen Zusammenhang, maximal innerhalb von 4 Wochen, DSA auftraten, wurde dies ebenso in der Tabelle gekennzeichnet.

Patient Nummer (ID-Nummer)	Geschlecht	Diagnose	DSA Spezifität	Behandlung der DSA	ACR oder BOS	MFI	CMV→ DSA	CMV→ DSA	ACR→ DSA					
1 (7)	M	ILD	Tac/ MMF	100	189	DQ2 C1q+	Keine	3000	0	68%	Ja			
2 (11)	M	COPD	Tac/ MMF	244	411	DQ3 DQ6	Keine	5000 4500	0	53%	Ja			
3 (14)	M	COPD	Tac/ MMF	322	P	DQ7 DQ9	Keine	5000	0	n.e.	Nein (123)			
4 (16)	M	CF	Tac/ MMF *	50	145	DQ2 C1q+	Keine	6000	0	79%	Ja			
5 (19)	W	ILD	Tac/ MMF **	21	114	DQ2	Keine	6000	0	72%	Ja			
6 (24)	M	ILD	Tac/ MMF	33	P	DQ4 C1q+	Rtx	7500	BOS 1 (124)	n.e.	Nein (206)			
7 (28)	W	COPD	Tac/ MMF **	312	P	DQ6 C1q+	Rtx/ PP/ IVIG	2400	0	46%	Ja			
8 (29)	M	CF	Tac/ MMF /Ev	17	88	DQ2	Keine	1300	ACR 1/1/3	105%	Ja			
9 (31)	M	ILD	Tac/ MMF	21	77	DQ9	Keine	1200	0	n.e.	Ja			
10 (34)	W	LAM + CF	Cya/ MMF	27	P	DQ2	Keine	1994	n.e.	n.e.	Nein (39)			
11 (35)	M	ILD	Tac/ MMF *	37	132	B8 C1q+ DQ2	Keine	2800 2200	0	74%	Ja			
12 (37)	W	PPH	Tac// Cya/ MMF	48	100	DQ7	Keine	2600	0	39%	Ja			

Nummer	Geschlecht	Diagnose	DSA Spezifität	Behandlung der DSA		Rtx/ PP/ IVIG	2150	0	53%	Ja	CMV→ DSA	ACR→ DSA	CMV→ DSA
				FEV1 nach 12 Monaten	Überleben								
13 (46)	M	ILD	Tac/ MMF /Ev	65	P	B44	Rtx/ PP/ IVIG	2150	0	53%	Ja		
14 (48)	M	CF	Tac// Cya/ MMF	375	P	DQ2 DQ5 C1q+	PP	7990 6577	0	n.e.	Nein (426)		
15 (55)	W	ILD	Tac/ MMF	57	P	DQ6 C1q+	Keine	8685	n.e.	33%	Ja		
16 (57)	M	ILD	Tac/ MMF	325	P	DR13	Keine	3119	0	78%	Ja		
17 (59)	M	ILD	Tac// Cya/ MMF /Ev	389	P	DR53 C1q+	Keine	28964	0	86%	Ja		
18 (60)	W	ILD	Tac/ MMF *	16	93	DQ6 DQ7	Keine	9015 8285	BOS 1 (249)	49%	Ja		
19 (61)	W	COPD	Tac/ MMF /Ev	17	171	DQ7	Keine	2546	0	61%	Ja		
20 (67)	W	PPH	Tac// Cya/ MMF	20	312	DQ7	Keine	8372	ACR 1/1/2	83%	Ja		
21 (69)	W	ILD	Cya/ MMF /Ev	39	72	DQ3	Keine	2585	0	63%	Ja		
22 (71)	M	ILD	Tac/ MMF */ Ev	45	98	DQA 1*05 C1q+	Keine	8233	0	48%	Ja		
23 (74)	M	COPD	Tac// Cya/ MMF	172	P	DQ7 C1q+	PP	5906	ACR 1/1/2	n.e.	Nein (356)		

Erläuterung:

Patient Nummer: Identifikationsnummer im Studienkollektiv in Klammern

\* MMF abgesetzt wegen Leukopenie oder Infektion

\*\* MMF abgesetzt wegen Leukopenie oder Infektion mit konsekutiver Entwicklung von DSA

P = persistierender de novo DSA

C1q+: DSA war C1q bindend

ACR: keine zelluläre Abstoßung = 0, ja = 1/Anzahl von ACR/höchster Grad der ACR

**Tabelle 21: Übersicht über alle Patienten mit de novo DSA [72]**

(*M: männlich, W: weiblich, ILD: interstitielle Lungenerkrankung, COPD: chronisch-obstruktive Lungenerkrankung, CF: zystische Fibrose, LAM: Lymphangioleiomyomatose, PPH: Primär pulmonale Hypertonie, IMR: Immunsuppressives Regime, Tac: Tacrolimus, CyA: Cyclosporin A, Ev: Everolimus, Rtx: Rituximab, PP: Plasmapherese, MFI: Mean Fluorescence Intensity, ACR: akute zelluläre Abstoßung A, BOS: Bronchiolitis obliterans Syndrom, 0: kein BOS, in Klammern: Tage bis BOS nach Transplantation, n.e.: nicht erhoben, FEV1: forciertes exspiratorisches Volumen in der ersten Sekunde, FEV1 Istwert in Prozent vom Sollwert nach 12 Monaten, Überlebenszeit in Klammern*)

## **4. DISKUSSION**

### **4.1. Zusammenfassung der Ergebnisse**

Von 75 Patienten, die zwischen 2013 und 2015 eine Lungentransplantation am Klinikum Großhadern erhielten wurden 72 Patienten in diese Studie eingeschlossen und durchschnittlich 20 Monate nachbeobachtet. Der Schwerpunkt lag auf der Bedeutung von de novo donorspezifischen Antikörpern, welche bei rund einem Drittel der Patienten auftraten. Davon traten 56% der de novo DSA transient auf, 44% persistierten. De novo DSA waren früh nach der Lungentransplantation nachweisbar, transiente DSA durchschnittlich früher als persistierende DSA. Risikofaktoren für die Entwicklung von de novo DSA waren in dieser Studie das gleichzeitige Vorhandensein von nicht donorspezifischen Antikörpern, ein langwieriger postoperativer Verlauf und eine Umstellung der immunsuppressiven Medikamente. Sowohl eine akute zelluläre Abstoßung als auch BOS traten bei DSA positiven Patienten nicht häufiger als bei DSA negativen Patienten auf. Hingegen hatten DSA positive Patienten ein schlechteres 1-Jahresüberleben als DSA negative Patienten, was vor allem in der deutlich reduzierten Überlebensrate der Patienten mit persistierenden DSA begründet lag. Selbst die Patienten mit persistierenden DSA, die das erste Jahr überlebten, hatten ein Jahr nach der Transplantation eine deutlich eingeschränkte Lungenfunktion im Vergleich zu Patienten ohne DSA und mit transienten DSA.

### **4.2. Diskussion der Methoden**

Das Kollektiv der hier untersuchten lungentransplantierten Patienten umfasste 75 Patienten. Vergleichende Studien aus anderen Zentren hatten einen ähnlichen Patientenumfang [5-8, 14, 59]. Manche untersuchten ein größeres Patientenkollektiv [10, 11, 13, 60, 63, 73] .

Die Kontrolluntersuchungen in dieser Arbeit erfolgten 3 Wochen, 3, 6 und 12 Monate nach der Transplantation. Auch in anderen Studien erfolgten in ähnlichen Abständen Kontrollbronchoskopien mit transbronchialen Biopsien und Screening auf HLA-Antikörper [5, 12-14, 59, 60].

Die methodischen Stärken der vorliegenden Studie lagen in der prospektiven und konsekutiven Erfassung der lungentransplantierten Patienten mit Screening auf HLA-Antikörper zu vorher festgelegten Zeitpunkten. Zeitgleich wurden weitere klinische Parameter, die alle routinemäßig bei den Patienten erhoben wurden, konsequent in eine Datenbank aufgenommen. Die Häufigkeit des HLA-Antikörper Screenings unterschied sich zwischen DSA positiven und negativen Patienten nicht. Allerdings ist anzumerken, dass Patienten mit persistierenden DSA durchschnittlich weniger häufig als Patienten mit transienten DSA auf das Vorliegen von HLA-Antikörpern getestet wurden (3,5 versus 4,3 mal). Dies lag jedoch daran, dass 40% der Patienten mit persistierenden DSA bereits im ersten Jahr verstarben. Eine weitere Stärke der Untersuchung war, dass nur Patienten mit einer Mindestnachbeobachtungszeit von 12 Monaten und mit mindestens zwei HLA-Antikörper Screeninguntersuchungen eingeschlossen wurden.

Methodisch wurde die Studie durch die relativ geringe Anzahl von 72 Patienten geschwächt. Die durchschnittliche Nachbeobachtungszeit betrug zudem nur 20 Monate. Eine längere Zeitspanne könnte eine bessere Aussage hinsichtlich der Entwicklung von Abstoßungsreaktionen, von CLAD und hinsichtlich des Langzeitüberlebens treffen. Darauf hinaus fehlte durch die kurze Nachbeobachtungszeit eine verlässliche Aussage zum Verlauf der Patienten mit transienten DSA, da möglicherweise bei diesen Patienten im weiteren Verlauf wieder DSA auftreten könnten.

#### **4.3. Diskussion der Ergebnisse**

##### **Diagnosen**

In dem Kollektiv dieser Arbeit war die Transplantation aufgrund einer ILD (53%) führend vor der COPD (25%). Im Vergleich zum ISHLT Register gab es leichte Unterschiede in der Häufigkeit der zur Transplantation führenden Diagnosen. Die häufigste Indikation laut ISHLT Register war im Zeitraum von 1995-2016 COPD (33%) gefolgt von ILD (30%) [4]. Der Anteil der Patienten mit COPD nahm in den letzten Jahren von 40% auf 30% ab und der Anteil der Patienten mit ILD stieg von 16% auf 31% [2].

In jüngerer Zeit stieg die Rate von DLTX laut ISHLT Register auf ungefähr Dreiviertel aller Lungentransplantationen an, was vergleichbar ist mit der Rate von 63% in diesem Kollektiv [4].

### **De novo DSA**

Der Anteil der Patienten mit de novo DSA nach der Transplantation lag in dieser Arbeit bei 32%. Entsprechende Angaben finden sich auch in der Literatur [6-8, 13, 58, 60, 74]. Der Anteil in anderen Kollektiven reichte von rund 10% [5, 10, 12] bis 60% [14, 59]. Ein Grund für die unterschiedlichen Häufigkeiten lag in der abweichenden Anzahl des HLA-Antikörper Screenings. In der Arbeit von Ius et al. waren nur 18% der Patienten DSA positiv, wobei das Screening weniger häufig, 14 Tage nach der Transplantation und vor der Entlassung aus dem Krankenhaus, erfolgte [11]. Außerdem wurden Patienten, bei denen vor der Entlassung aus dem Krankenhaus keine de novo DSA nachweisbar waren, nur im Falle einer Transplantatverschlechterung auf das Vorhandensein von HLA-Antikörpern getestet. So ist es möglich, dass bei einigen Patienten de novo DSA nicht entdeckt wurden [11]. Andere Gründe für das geringere Aufkommen von Patienten mit de novo DSA waren die unterschiedlichen analytischen Methoden sowie unterschiedliche MFI-Werte, ab denen DSA Positivität angenommen wurde. In der Arbeit von Le Pavec et al. wurden 61% DSA positive Patienten nachgewiesen. In ihrer Analyse wurde ab einem MFI-Wert von über 500 bereits DSA als positiv gewertet [14]. In der Untersuchung von Islam et al. mit 22% DSA positiven Patienten wurden de novo DSA erst ab einem MFI-Wert von über 2000 als positiv gewertet [13].

In dieser und anderen Arbeiten traten am häufigsten anti-HLA-Klasse II DSA gegen DQ-Spezifitäten auf [6]. In der Arbeit von Tikkannen et al. waren über zwei Drittel der de novo DSA gegen HLA-DQ gerichtet, welche mit der Entwicklung von CLAD assoziiert waren [60]. Zwar hatten in diesem Kollektiv alle verstorbenen DSA positiven Patienten persistierende DQ-DSA, jedoch ließ sich kein statistischer Zusammenhang zwischen DQ-DSA und Versterben herstellen. Dies lag zum einen möglicherweise an der kleinen Fallzahl und zum anderen daran, dass alle Patienten mit transienten DSA auch DQ-DSA hatten und alle im Beobachtungszeitraum überlebten.

Eine wichtige Beobachtung dieser Studie war die Tatsache, dass 56% der de novo DSA nach einer medianen Zeit von 114 Tagen spontan eliminiert wurden und als transient bezeichnet wurden. Auch Islam et al. unterteilten de novo DSA in eine Gruppe von „isolierten“ DSA, also de novo DSA, welche nach einer medianen Zeit von 70 Tagen nicht mehr nachweisbar waren [13]. Diese „isolierten“ de novo DSA machten einen Anteil von 35% der de novo DSA aus [13]. Die Autoren bezeichneten DSA als isoliert, wenn nach dem initialen positiven Test keine DSA mehr nachweisbar waren und als persistierend, wenn mehrere HLA-Tests positiv waren [13]. Safavi et al. beispielsweise definierten DSA als persistierend, wenn sie über 6 Monate kontinuierlich vorhanden waren [8]. An diesen Beispielen sieht man, dass die Begriffe persistierend und transient in der Literatur nicht einheitlich verwendet werden.

De novo DSA traten in unserer Studie früh, nach einer medianen Zeit von 48 Tagen nach der Lungentransplantation auf. Interessanterweise traten transiente DSA signifikant früher auf als persistierende DSA. Auch in weiteren Arbeiten war der Zeitpunkt des erstmaligen Nachweises der de novo DSA zum großen Teil in den ersten 3 Monaten bis zu einem Jahr postoperativ [5, 11-14, 59, 60]. So berichteten Islam et al., dass 78% der de novo DSA im ersten Jahr postoperativ nach einer medianen Zeit von 118 Tagen auftraten [13]. Le Pavec et al. differenzierten de novo DSA hinsichtlich des zeitlichen Auftretens, unterschieden jedoch nicht zwischen persistierenden und transienten DSA [14]. Sie fanden, dass im ersten Monat nach Transplantation nachgewiesene DSA mit einem schlechteren Outcome einhergingen [14]. Dies stand im Gegensatz zu der Beobachtung, dass die früh aufgetretenen transienten DSA sogar mit einem besseren Überleben assoziiert waren. Die Mehrheit der de novo DSA kann durch ein frühes und regelmäßiges Screening gerade im ersten Jahr nach der Transplantation entdeckt werden.

## **Präformierte HLA-Antikörper**

In der vorliegenden Arbeit traten bei 14% der Patienten präformierte HLA-Antikörper auf, die jedoch kein Risikofaktor für die Entwicklung von de novo DSA und für erhöhte Mortalität waren. Bei Vorhandensein von präformierten HLA-Antikörpern wurde keine Änderung der Immunsuppression und keine Induktionstherapie durchgeführt. In unserem Zentrum erfolgt nur eine Transplantation bei virtuell negativer Kreuzprobe. Brugiére und Kollegen untersuchten in einem retrospektiven Ansatz die Bedeutung von präformierten

HLA-Antikörpern mit Hilfe von Luminex bei Patienten, die vor der Etablierung des Luminex-Verfahrens transplantiert wurden und mittels CDC auf HLA-Antikörper getestet wurden [75]. Dabei stellte sich heraus, dass über ein Drittel der Patienten präformierte HLA-Antikörper mit einem MFI-Wert von >300 hatten [75]. Die Autoren beschrieben ein signifikant schlechteres Outcome hinsichtlich BOS-Entwicklung und Mortalität bei Patienten mit präformierten DSA gegen HLA-Klasse II, nicht jedoch mit präformierten DSA gegen HLA-Klasse I sowie mit präformierten nicht donorspezifischen HLA-Antikörpern [75]. Mit einem ähnlichen Ansatz konnten Smith et al. zeigen, dass Patienten mit retrospektiv getesteten präformierten DSA, vor allem solche mit hohen MFI-Werten, ein schlechteres 1-Jahresüberleben hatten, wohingegen präformierte nDSA keinen Einfluss auf das Überleben hatten [76]. Basierend auf diesen Beobachtungen wird vermutet, dass präformierte DSA mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko einhergehen. Dennoch wird die Bedeutung von präformierten DSA kontrovers diskutiert. Zazueta et al. fanden sowohl bei Patienten mit präformierten HLA-Antikörpern als auch bei Patienten mit DSA und negativer Kreuzprobe keine erhöhte Rate an CLAD [77]. Snyder et al. konnten durch eine aggressive Desensibilisierungstherapie mit Plasmapherese, Methylprednisolon, Bortezomib, Rituximab und IVIG präformierte HLA-Antikörper bei hochgradig sensibilisierten Patienten nicht signifikant verringern und fanden keinen Überlebensvorteil im Vergleich zu unbehandelten Patienten mit präformierten Antikörpern [78]. Hachem et al. und Tikkanen et al. zeigten, dass präformierte nicht donorspezifische HLA-Antikörper, wie auch in unserer Studie, keinen Einfluss auf die postoperative DSA Entwicklung und den Transplantationserfolg hatten [59, 60]. Im Gegensatz dazu fanden Ius et al. und Safavi et al. eine erhöhte Rate an DSA bei Patienten mit präoperativen HLA-Antikörpern [8, 11]. Auch Snyder et al. identifizierten präformierte HLA-Antikörper als Risikofaktor für die postoperative Entwicklung von HLA-Antikörpern und auch von DSA [12]. Da in der Literatur kontrovers diskutiert wird, ob präformierte HLA-Antikörper einen Risikofaktor für ein schlechteres Transplantationsergebnis darstellen, ist auch die Frage nach der Behandlung dieser Antikörper, welche mit erheblichen Nebenwirkungen verbunden ist, nicht vollständig geklärt.

## **Nicht donorspezifische Antikörper**

Insgesamt waren bei 31% der Patienten nicht donorspezifische Antikörper nach der Transplantation nachweisbar, signifikant häufiger bei Patienten mit de novo DSA. Auch Lobo et al. berichteten von einer Rate von 50% nDSA postoperativ, welche mit dem Auftreten von de novo DSA assoziiert waren [6]. Bei Le Pavec et al. waren es 90% und bei Snyder et al. 32% der Patienten, welche nach der Transplantation HLA-Antikörper entwickelten [12, 60]. Diese Zahlen sowie die Rate von 43% der Patienten mit postoperativen HLA-Antikörpern in diesem Kollektiv zeigen, dass die Entwicklung von HLA-Antikörpern nach einer Transplantation häufig auftritt. Darüber hinaus ist es möglich, dass sensibilisierte Patienten ein höheres immunologisches Risiko hatten, auch donorspezifische HLA-Antikörper zu entwickeln. Dies zeigte sich zum einen durch den signifikant höheren virtuellen Prozentsatz an Panel-reaktiven Antikörpern (56% versus 4%; p<0,001) und zum anderen durch den signifikant höheren Anteil von nDSA bei DSA positiven im Vergleich zu DSA negativen Patienten in dieser Arbeit (61% versus 17%, p<0,001).

## **Risikofaktoren für de novo DSA**

Mittlerweile wurden verschiedene Risikofaktoren für das Auftreten von de novo DSA identifiziert. DSA positive Patienten wurden in diesem Kollektiv signifikant länger beatmet (Median 8 versus 2 Tage; p=0,03) und länger auf der Intensivstation behandelt (Median 17 versus 8 Tage; p=0,03). Ähnliche Beobachtungen wurden ebenfalls bereits in der Literatur diskutiert. Die Arbeit von Ius et al. bestätigte, dass ein komplizierter postoperativer Verlauf mit längerer Beatmung und längerer intensivmedizinischer Behandlung einschließlich einer größeren Anzahl an Bluttransfusionen (TKs und EKs) ein Risikofaktor für die frühe Entwicklung von DSA sein könnte [11]. Snyder et al. identifizierten die Gabe von TKs ebenso als Prädiktor für die Entwicklung von HLA-Antikörpern, jedoch nicht spezifisch für DSA, während Islam et al. eine Assoziation zwischen der Gabe von TKs und der Entwicklung von de novo DSA zeigen konnten [12, 13]. Im Gegensatz dazu gab es in der vorliegenden Arbeit zwar einen Zusammenhang zwischen einem längeren Intensivaufenthalt und einer größeren Zahl an Transfusionen, es konnte allerdings kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Entwicklung von DSA und der Gabe von korpuskulären Transfusionen hergestellt werden. Jedoch wurden in

dieser Arbeit unter korpuskulären Transfusionen TKs und EKs subsumiert und TKs nicht separat, wie bei Islam et al., aufgeführt [13]. Des Weiteren sind eine Schädigung und Entzündungsreaktion der Lunge, wie im Rahmen eines Ischämiereperfusions schadens, mögliche Trigger für die Entwicklung von de novo DSA und könnten den Zusammenhang zwischen einem schwierigen postoperativen Verlauf und der Entwicklung von HLA-Antikörpern erklären [79, 80].

Bei DSA positiven Patienten erfolgte häufiger eine Umstellung der immunsuppressiven Therapie in den ersten 3 Monaten nach der Transplantation von Tacrolimus auf Cyclosporin A als bei DSA negativen Patienten (22% versus 4%). Bis auf Ius et al., die auch zeigen konnten, dass eine solche Umstellung bei Patienten mit früh aufgetretenen DSA signifikant häufiger war (22% versus 2%), bezogen nur wenige Studien die Umstellung von Tacrolimus auf Cyclosporin A in die jeweiligen Analysen mit ein [11]. In der Arbeit von Safavi et al. war die Umstellung des standardmäßig gegebenen Cyclosporin A auf Tacrolimus mit einer höhergradigen und schnelleren Entwicklung von BOS assoziiert, jedoch wurde dies auch dadurch erklärt, dass erst bei Auftreten von BOS von Cyclosporin A auf Tacrolimus gewechselt wurde [8]. Treede et al. verglichen Tacrolimus und Cyclosporin A und zeigten, dass Tacrolimus mit einem niedrigeren Risiko für die Entwicklung von BOS einherging [81]. Eine Zunahme akuter Abstoßungsreaktionen und perioperativer Mortalität fand sich nicht [81]. Bei Nierentransplantationen wurde gezeigt, dass niedrige und schwankende Tacrolimus Spiegel mit der Entwicklung von DSA korrelierten [82, 83].

Ein Drittel der Patienten in diesem Kollektiv erhielt im Verlauf nach der Transplantation Everolimus einhergehend mit reduzierter CNI-Dosis. Die Inzidenz von de novo DSA unterschied sich zwischen der Gruppe mit und ohne mTOR-Inhibitor nicht. Der Fokus dieser Studie lag nicht auf der Auswirkung von Everolimus auf das Outcome der lungentransplantierten Patienten. In der Literatur finden sich Hinweise, dass die Umstellung auf Everolimus mit reduzierter CNI-Dosis nephroprotektiv ist, ohne dass es zu einer Verminderung der immunsuppressiven Wirkung kommt [38].

## **Abstoßung**

Eine akute zelluläre Abstoßung, die in rund einem Drittel der Fälle im ersten Jahr nach einer Lungentransplantation auftritt, ist ein potentieller Risikofaktor für die Entwicklung von de novo DSA [39, 79]. Lobo et al. zeigten einen Zusammenhang zwischen de novo DSA und der Anzahl von ACR-Episoden, welche durchschnittlich 2,6 mal bei DSA positiven im Vergleich zu 1,7 mal bei DSA negativen Patienten auftraten ( $p=0,059$ ) [6]. Yousem et al. verglichen Lungenbiopsien von Patienten mit und ohne anti-HLA-Antikörper und konnte dabei feststellen, dass DSA mit einer ACR > A2 assoziiert waren [64]. Girnita et al. fanden eine höhere Prävalenz und mehr Episoden von ACR bei Patienten mit HLA-Antikörpern [5]. Eine ACR kam in vorliegendem Kollektiv nur bei 10 Patienten vor, von denen drei Patienten de novo DSA aufwiesen. Die relativ geringe Anzahl an ACR im Vergleich zu anderen Arbeiten könnte auch an der Häufigkeit der Bronchoskopien mit Entnahme einer TBB liegen. So diagnostizierten Islam et al. bei 39% der DSA negativen und 35% der DSA positiven Patienten eine akute Abstoßung mittels TBB, die während der Routinebronchoskopien nach 1, 2, 3, 6, 9 und 12 Monaten entnommen wurden [13]. Bei den Patienten in diesem Kollektiv wurden zwar regelmäßige Kontrollbronchoskopien nach 3 Wochen, 3, 6, 12 und 18 Monaten durchgeführt, jedoch nicht immer mit Entnahme einer TBB. In dieser Arbeit konnte kein Zusammenhang zwischen der DSA Entwicklung und der Ausbildung einer ACR gezeigt werden. Auch weitere Studien sahen keinen Zusammenhang zwischen de novo DSA und ACR [13, 14, 59]. Einige Arbeitsgruppen konnten hingegen eine Abstoßung als einen signifikanten Risikofaktor für die Entwicklung von BOS nachweisen [5, 15, 84, 85]. Girnita et al. formulierten die Hypothese, dass gerade das gleichzeitige Vorhandensein von ACR und HLA-Antikörpern eine größere Assoziation mit der Entwicklung von BOS aufweisen könnte als eine alleinige ACR ohne HLA-Antikörper [5]. Aufgrund der geringen Patientenzahl und der relativ geringen Rate an akuter Abstoßung und BOS-Entwicklung in vorliegendem Kollektiv konnte ein solcher Zusammenhang nicht untersucht werden.

Die Definition einer Antikörper vermittelten Abstoßung wird bis heute nicht einheitlich gehandhabt. Laut der internationalen Gesellschaft für Herz- und Lungentransplantation (ISHLT) erfordert die Diagnose AMR zirkulierende DSA, eine Transplantatdysfunktion und einen pathologischen Befund in der TBB [86]. Einige Autoren empfehlen von einer

AMR zu sprechen, wenn neben DSA, Transplantatdysfunktion, histologischem Nachweis eines Gewebeschadens der Lunge auch kapilläre C4d Ablagerungen in der Lunge nachweisbar sind [62]. Witt et al. identifizierten mittels dieser Definition jedoch in einem großen Kollektiv von 484 Patienten nur 21 Patienten (4%) mit AMR [62]. Dass eine Ablagerung von C4d möglicherweise kein geeignetes Kriterium für die Diagnose einer AMR ist, wurde durch die Arbeit von Roberts et al. unterstrichen, in welcher es keinen Zusammenhang zwischen positiver C4d Färbung und DSA Entwicklung gab [74]. Lobo et al. sprachen von einer AMR, wenn es neben der Produktion von de novo DSA zu einer zunehmenden Transplantatverschlechterung ohne begleitende Infektion kam [6]. Interessanterweise hatte in vorliegender Studie kein Patient eine positive C4d Färbung in der TBB. Letztendlich spielt für die Diagnose einer AMR die Zusammenschau der Befunde eine entscheidende Rolle, da die einzelnen Parameter für sich genommen nicht ausreichend spezifisch sind und weitere Untersuchungen dazu in Zukunft notwendig sein werden.

Insgesamt hatten 10 DSA positive Patienten (43%) in dieser Arbeit C1q-bindende de novo DSA. Dieser Anteil war vergleichbar mit der Studie von Kauke et al., in der 41% der DSA positiven Patienten C1q-bindende Antikörper hatten [7]. Patienten mit C1q-bindenden DSA hatten eine erhöhte postoperative Mortalität, was in vorliegender Untersuchung nicht der Fall war [7]. In der Literatur finden sich Hinweise, dass C1q-bindende DSA im Rahmen der Nierentransplantation mit einer erhöhten Rate von AMR, Transplantatglomerulopathie beziehungsweise schlechterem Transplantatüberleben korrelieren [67, 87-90]. Auch in einer kleinen Kohorte von herztransplantierten pädiatrischen Patienten fand sich ein Zusammenhang zwischen C1q-positiven DSA und AMR [91]. Dennoch wird auch bei nierentransplantierten Patienten die Bedeutung von C1q-bindenden DSA kontrovers diskutiert. Kauke et al. und Messina et al. konnten keine Korrelation zwischen C1q-positiven und negativen DSA hinsichtlich des Auftretens eines Transplantatversagens nachweisen [92, 93].

Viele Arbeiten zeigen, dass de novo DSA mit der Entwicklung von BOS und CLAD assoziiert sind [7, 8, 10, 60]. Der genaue Zusammenhang zwischen DSA und BOS ist jedoch noch nicht verstanden [94]. Die lange Nachbeobachtungszeit von über 3 Jahren in der Studie von Morrell et al. ermöglichte eine aussagekräftige Analyse von BOS, welches

bei 78% der DSA positiven und 24% der DSA negativen Patienten auftrat und mit erhöhter Mortalität verbunden war [10]. In den Arbeiten von Girnita et al. und Snyder et al. mit einer langen Nachbeobachtungszeit von jeweils rund 4 Jahren, stellten HLA-Antikörper einen Risikofaktor für BOS dar, welches 37% respektive 44% der Patienten entwickelten [5, 12]. Snyder et al. fanden keinen Zusammenhang zwischen DSA und BOS [12]. Kauke et al. konnten indes zeigen, dass de novo DSA signifikant mit der Entwicklung von BOS assoziiert waren (41% versus 14%; p=0,002) [7]. Die durchschnittliche Nachbeobachtungszeit betrug in dieser Arbeit circa 3 Jahre und BOS trat postoperativ vor allem nach einer Zeit von zwei Jahren auf [7]. Tikkanen et al. berichteten von 15% der Patienten mit CLAD und darüber hinaus über eine Assoziation von de novo DSA mit CLAD [60]. In der Studie von Hachem et al. entwickelten 38% der DSA positiven und 46% der DSA negativen Patienten BOS [59]. DSA waren mit keinem höheren Risiko für die Entwicklung eines BOS assoziiert [59]. In vorliegender Arbeit entwickelten zwei DSA positive Patienten (9%) BOS im Vergleich zu sechs DSA negativen Patienten (12%). Bei beiden DSA positiven Patienten traten de novo DSA vor der Entwicklung von BOS auf. Da die Nachbeobachtungszeit in dieser Arbeit nur durchschnittlich 20 Monate betrug und BOS in vielen Fällen erst ein Jahr oder später nach der Transplantation auftritt, ist dies möglicherweise ein Grund für die beobachtete niedrige BOS-Rate von 13%. Dies schränkt eine Aussage zum Zusammenhang zwischen DSA und BOS sowie eine valide statistische Beurteilung in diesem Kollektiv ein.

## Lungenfunktion

In der Analyse der Lungenfunktion, gemessen am FEV1-Wert, erreichte die Gruppe der Patienten mit persistierenden DSA im Vergleich zu allen anderen Gruppen deutlich schlechtere Werte. Vor allem Patienten ohne HLA-Antikörper und DSA negative Patienten zeigten eine signifikante Verbesserung der FEV1 nach 12 Monaten im Vergleich zum letzten präoperativ gemessenen Wert. Obwohl die Messung der FEV1 wichtig zur Beurteilung des klinischen Verlaufs nach einer Lungentransplantation ist, wird die Beurteilung in der Literatur uneinheitlich gehandhabt. Girnita et al. verglichen die FEV1 Werte mit dem besten Wert, der in den ersten 100 Tagen nach der Transplantation erreicht wurde [5]. In einer anderen Arbeit wurde der Abfall der absoluten Werte der FEV1 vor und nach einer therapeutischen Maßnahme als Kriterium verwendet [58]. Der Wert der FEV1

dient in einem Großteil der Untersuchungen vornehmlich zur Berechnung von BOS und CLAD.

### **Behandlung von de novo DSA**

Die Behandlung von Patienten mit de novo DSA ist nach wie vor nicht einheitlich und basiert zum großen Teil auf Erfahrungen aus dem Bereich der Nierentransplantation [39, 95]. Ius et al. verglichen die Ergebnisse von Patienten mit behandelten und unbehandelten de novo DSA. Zwei Drittel der DSA positiven Patienten erhielt eine gezielte präemptive Behandlung mit Plasmapherese (3-5 Zyklen und gegebenenfalls weitere bei Persistenz von DSA) und Rituximab ( $375\text{mg}/\text{m}^2$ ) und ein Drittel der Patienten mit de novo DSA wurde aufgrund klinischer und organisatorischer Ursachen nicht therapiert [61]. Interessanterweise führte die zielgerichtete Behandlung der DSA zwar zu einer partiellen Eliminierung von de novo DSA, jedoch war die spontane Eliminierungsrate auch von unbehandelten de novo DSA hoch und die Therapie führte zu keinem besseren Ergebnis hinsichtlich des Überebens [61]. Dies steht im Gegensatz zu anderen Arbeiten, wie zum Beispiel der Studie von Hachem et al., in deren Untersuchung die Patienten mit einer erfolgreichen Eliminierung von de novo DSA nach einer Behandlung mit Rituximab ( $375\text{mg}/\text{m}^2$ ) und IVIG ( $500\text{mg}/\text{kg}$  monatlich für mind. 6 Monate oder bis zur Eliminierung von DSA) eine bessere Prognose mit längerem BOS-freien Intervall und längerem Überleben hatten [59]. Jedoch betrug die Eliminierungsrate der DSA trotz Therapie nur circa 50% und es fand sich kein Unterschied im Überleben bei alleiniger Betrachtung von DSA positiven und negativen Patienten [59]. Auch Witt et al. fanden heraus, dass die Eliminierung von DSA durch eine zielgerichtete Therapie, die allerdings nur bei rund der Hälfte der DSA positiven Patienten erfolgreich war, mit einem besseren Überleben assoziiert war [62]. Obwohl es der Ansatz von Le Pavec et al. war, alle Patienten, die im ersten Monat nach der Transplantation DSA positiv waren unabhängig von der Transplantatfunktion zu behandeln (IVIG  $1\text{g}/\text{kg}$  Körpermengen alle 4 Wochen, bei hohen MFI-Werten zusätzlich 2-3 Zyklen Plasmapherese und Rituximab  $375\text{mg}/\text{m}^2$  bis zur Eliminierung von DSA), wurden letztendlich nur 26% der Patienten behandelt [14]. Da die Therapie von DSA mit erheblichen Nebenwirkungen, nicht zuletzt einer ausgeprägten Immunsuppression, verbunden ist, wurden Patienten mit DSA von uns sowie anderen nur bei klinischer Verschlechterung der Transplantatfunktion zielgerichtet therapiert [6, 8, 60,

96]. So behandelten Islam et al. 22% der Patienten mit de novo DSA, welche gleichzeitig unter einer ACR  $\geq$  A2 oder einer Transplantatdysfunktion (nach Ausschuss einer infektiologischen Ursache) litten [13]. Dies führte zu einer Eliminierung der DSA bei rund der Hälfte der behandelten Patienten, was aber zu keiner Prognoseverbesserung führte [13]. Vacha et al. behandelten DSA positive Patienten mit Plasmapherese, Bortezomib, Rituximab und IVIG ebenso nur bei gleichzeitiger Transplantatdysfunktion, wobei auch diese Behandlung nur bei 27% der Patienten zu einer Elimination von DSA und zu einer Stabilisierung der Transplantatfunktion führte [96]. Auch bei den von uns behandelten Patienten persistierten de novo DSA weiterhin.

## Überleben

Die 1-Jahresüberlebensrate von 90% im vorliegenden Kollektiv war etwas besser als die 1-Jahresüberlebensrate des ISHLT Registers von 84% im Zeitraum von 2009-2015 [4].

DSA positive Patienten hatten ein geringeres 1-Jahresüberleben als Patienten ohne DSA (83% versus 94%; p=0,199). Le Pavec et al. berichteten von 1-Jahresüberlebensraten von 76% und 84% und Lobo et al. von 92% und 97% für DSA positive beziehungsweise DSA negative Patienten [6, 14]. Der Trend zu einem schlechteren Überleben von Patienten mit de novo DSA fand sich auch in weiteren Untersuchungen [8, 10-12]. Das Transplantatüberleben der Patienten mit de novo DSA betrug in der Studie von Islam et al. nur 79% im Vergleich zu 85% bei de novo DSA negativen Patienten [13]. Nicht alle Daten aus der Literatur waren jedoch uneingeschränkt vergleichbar. Bei Morrell et al. hatten DSA positive Patienten zwar ein signifikant schlechteres Überleben, jedoch wurde der Überlebensunterschied erst mehrere Jahre nach der Transplantation sichtbar [10]. Zudem wurden in dieser Studie sowohl Patienten, die innerhalb von 3 Monaten nach der Transplantation verstarben als auch Patienten ohne postoperative Lungenfunktionsmessungen ausgeschlossen [10]. Vacha et al. berechneten eine 1-Jahresüberlebensrate von 56% für ein Kollektiv von Patienten mit de novo DSA und gleichzeitiger Transplantatdysfunktion [96]. Tikkanen et al. hingegen fanden trotz einer Nachbeobachtungszeit von rund zwei Jahren keinen negativen Einfluss von de novo DSA auf das Überleben [60].

Bei der Differenzierung der de novo DSA in transiente und persistierende DSA fiel in dieser Studie eine deutlich reduzierte 1-Jahresüberlebensrate von 60% der Patienten mit persistierenden DSA auf. Das schlechtere Überleben von DSA positiven Patienten war auf den Einfluss der persistierenden DSA zurückzuführen, da die 1-Jahresüberlebensrate der Patienten mit transienten DSA 100% betrug. Dass die Unterscheidung zwischen persistierende DSA und transienten DSA wichtig sein könnte, zeigte auch die Arbeit von Islam et al., in der bei 46% der Patienten mit persistierenden DSA und bei keinem Patienten mit transienten DSA eine akute Abstoßung nachgewiesen wurde [13]. Zudem gingen persistierende DSA mit einer geringeren Rate an Transplantatversagen einher als transiente DSA [13].

## **Limitationen**

Einige Parameter sind in ihrer Aussagekraft limitiert, da manche Patienten aufgrund eines schweren klinischen Verlaufs körperlich nicht in der Lage waren eine Lungenfunktionsmessung durchzuführen oder an einer Rehabilitation teilzunehmen. Dies könnte zu einer Verzerrung des funktionalen Ergebnisses führen, da gerade die Daten der sehr kranken Patienten fehlen. Darüber hinaus ist zu erwähnen, dass nur 60% der Patienten mit persistierenden DSA länger als ein Jahr nach der Transplantation überlebten und somit nur ein Teil der Patienten mit persistierenden DSA, hingegen nahezu alle Patienten mit transienten DSA, in die Analyse der oben genannten funktionalen Ergebnisse (z.B. FEV1 nach einem Jahr, Verbesserung der Gehstrecke) eingeschlossen werden konnten und dadurch die Teststärke der Statistik reduziert ist.

Zwar ist die Lungenfunktion ein wichtiger Parameter im Rahmen der Diagnostik, jedoch mit Schwierigkeiten in der Vergleichbarkeit verbunden. Zum einen wurde keine Differenzierung in restriktive und obstruktive Lungenfunktionsstörungen vorgenommen und zum anderen wurde bei der Auswertung der Lungenfunktion unberücksichtigt gelassen, ob ein Patient Einzel- oder Doppellungen transplantiert wurde. Um diesen Verzerrungen zu einem gewissen Teil entgegen zu wirken, wurde eine zweite Analyse mit der absoluten Verbesserung der FEV1 vor und nach der Transplantation durchgeführt.

CLAD wird mittlerweile als Überbegriff für verschiedene Phänotypen einer chronischen Abstoßung mit FEV1-Verlust verwendet [42]. Zunehmend wird zwischen dem restriktiven

Phänotyp (RAS) mit einem Abfall der totalen Lungenkapazität und der obstruktiven Form (BOS) unterschieden [39, 42]. In dieser Arbeit wurde zur Beurteilung einer chronischen Abstoßung nur BOS berechnet, welches auch in der Literatur am häufigsten verwendet wird. Eine Limitation der Studie ist, dass die restriktive Form von CLAD nicht für alle Patienten berechnet wurde und nicht in die Analyse mit einbezogen wurde. Dies lag daran, dass zu Beginn dieser Untersuchung die Definition von RAS noch nicht etabliert war. Darüber hinaus war die Aussagekraft zur BOS Entwicklung limitiert durch die kurze Nachbeobachtungszeit dieses Studienkollektivs.

Die Sensitivität des HLA-Screenings ist geringer als die Einzelantigenbestimmung. Ein negatives Ergebnis im HLA-Screening wurde jedoch nicht durch eine Einzelantigenbestimmung bestätigt. Deshalb ist es möglich, dass der Anteil der Patienten mit DSA noch höher liegen könnte. Darüber hinaus wird bis heute über den MFI-Wert diskutiert, ab welchem DSA als positiv zu werten sind [97]. In dieser Studie galten DSA ab einem MFI-Wert von über 1000 als positiv.

## Ausblick

Die ISHLT empfiehlt ein regelmäßiges Screening auf HLA-Antikörper zeitgleich zu den Kontrollbronchoskopien durchzuführen [86]. Diese Empfehlung lässt sich auch aus diesen Ergebnissen ableiten, da de novo DSA früh und mit variablem Verlauf in unserem Patientenkollektiv auftraten und zu einem großen Teil spontan eliminiert wurden. Nur ein frühes und regelmäßiges Screening nach der Transplantation ermöglicht es, die transient auftretenden DSA nachzuweisen. Unsere Ergebnisse legen nahe, dass es wichtig ist zwischen transienten und persistierenden de novo DSA zu unterscheiden und diese zwei Gruppen exakt zu definieren, da deren Bedeutung für den weiteren Verlauf nach einer Lungentransplantation unterschiedlich ist. Darüber hinaus trägt die Unterscheidung zwischen Gruppen mit hohem und niedrigem Risiko dazu bei, den Nutzen einer zielgerichteten Therapie von DSA gegen die Nebenwirkungen und Risiken einer solchen Behandlung abzuwägen. Es ist denkbar, dass Patienten mit transienten DSA sogar eine Gruppe mit besserer Prognose darstellen [60]. Allerdings könnten transiente DSA im weiteren zeitlichen Verlauf wieder auftreten. Um dies zu beurteilen braucht es in Zukunft weitere Studien mit einer größeren Anzahl an Patienten und längerer Nachbeobachtungszeit.

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

De novo donorspezifische, also gegen das Spenderorgan gerichtete, HLA-Antikörper treten bei einem großen Teil der Patienten nach einer Lungentransplantation auf. Vieles deutet darauf hin, dass sie mit einer erhöhten Rate an chronischer Abstoßung und Transplantatversagen einhergehen. Welchen Einfluss der Zeitpunkt des Auftretens sowie die spontane oder therapeutische Elimination von de novo DSA auf die Transplantatfunktion hat, wird kontrovers diskutiert. Das Ziel dieser Arbeit war es, die Bedeutung von de novo DSA hinsichtlich Transplantatfunktion und Überleben bei Patienten nach einer Lungentransplantation zu untersuchen.

Dazu wurden 72 Patienten, die am Klinikum Großhadern zwischen 2013 und 2015 eine Doppel- oder Einzellungentransplantation erhielten, in eine prospektive Studie eingeschlossen und durchschnittlich 20 Monate nachbeobachtet. Ein HLA-Antikörper Screening mittels Single Antigen Bead Assay (Einzelantigentest) wurde vor der Transplantation und in regelmäßigen Abständen nach der Transplantation durchgeführt (nach 3 Wochen, 3, 6, 12 und 18 Monaten). Diese Ergebnisse wurden mit weiteren klinischen Parametern, wie der Entwicklung von BOS und dem Überleben, korreliert.

Bei 23 Patienten (32%) waren nach der Transplantation de novo DSA nachweisbar. Nach einer medianen Zeit von 114 Tagen wurden de novo DSA bei 13 von 23 Patienten spontan eliminiert und als transient bezeichnet, während bei 10 von 23 Patienten diese während des kompletten Beobachtungszeitraumes persistierten. Transiente DSA traten signifikant früher auf als persistierende DSA (Median von 52 versus 177 Tage;  $p=0,011$ ). Risikofaktoren für das Auftreten von de novo DSA waren ein komplizierter postoperativer Verlauf mit langer postoperativer Nachbeatmungzeit und langem Intensivaufenthalt ( $p=0,027$ ), ein Wechsel der immunsuppressiven Therapie von Tacrolimus auf Cyclosporin A ( $p=0,030$ ) sowie das gleichzeitige Vorhandensein von nicht donorspezifischen HLA-Antikörpern ( $p=0,001$ ). Die Patienten mit de novo DSA hatten tendenziell eine schlechtere 1-Jahresüberlebensrate als Patienten ohne de novo DSA (83% versus 94%;  $p=0,078$ ). Auffallend war, dass die Überlebensrate von Patienten mit transienten DSA 100% (13/13) betrug im Gegensatz zur deutlich eingeschränkten 1-Jahresüberlebensrate von 60% (4/10) bei Patienten mit persistierenden DSA ( $p=0,005$ ). Selbst die Patienten mit persistierenden DSA, welche das

erste Jahr überlebten, hatten ein Jahr nach der Transplantation eine deutlich eingeschränkte Lungenfunktion (FEV1: 58% vom Sollwert) im Vergleich zu DSA negativen Patienten (FEV1: 76%) und Patienten mit transienten DSA (FEV1: 66%).

Durch ein engmaschiges und regelmäßiges Screening auf HLA-Antikörper kann zwischen transienten und persistierenden de novo DSA unterschieden werden. Diese Differenzierung ist von großer Bedeutung hinsichtlich der Risikobeurteilung nach einer Lungentransplantation, da gerade persistierende de novo DSA mit einem hohen Risiko für ein Transplantatversagen einhergehen.

Die Bedeutung einer Therapie von de novo DSA ist weiterhin umstritten und konnte in unserem Patientenkollektiv weder zu einer kompletten Eliminierung noch zu einer Verbesserung des Überlebens führen.

## 6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Weill, D., et al., *A consensus document for the selection of lung transplant candidates: 2014--an update from the Pulmonary Transplantation Council of the International Society for Heart and Lung Transplantation*. J Heart Lung Transplant, 2015. **34**(1): p. 1-15.
2. Yusen, R.D., et al., *The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-second Official Adult Lung and Heart-Lung Transplantation Report--2015; Focus Theme: Early Graft Failure*. J Heart Lung Transplant, 2015. **34**(10): p. 1264-77.
3. Kapila, A., et al., *Reliability of diagnostic criteria for bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation: a survey*. J Heart Lung Transplant, 2015. **34**(1): p. 65-74.
4. Chambers, D.C., et al., *The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-fourth Adult Lung And Heart-Lung Transplantation Report-2017; Focus Theme: Allograft ischemic time*. J Heart Lung Transplant, 2017. **36**(10): p. 1047-1059.
5. Girnita, A.L., et al., *HLA-specific antibodies are risk factors for lymphocytic bronchiolitis and chronic lung allograft dysfunction*. Am J Transplant, 2005. **5**(1): p. 131-8.
6. Lobo, L.J., et al., *Donor-specific antibodies are associated with antibody-mediated rejection, acute cellular rejection, bronchiolitis obliterans syndrome, and cystic fibrosis after lung transplantation*. J Heart Lung Transplant, 2013. **32**(1): p. 70-7.
7. Kauke, T., et al., *Bronchiolitis obliterans syndrome due to donor-specific HLA-antibodies*. Tissue Antigens, 2015. **86**(3): p. 178-85.
8. Safavi, S., et al., *De novo donor HLA-specific antibodies predict development of bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation*. J Heart Lung Transplant, 2014. **33**(12): p. 1273-81.

9. Estenne, M., et al., *Bronchiolitis obliterans syndrome 2001: an update of the diagnostic criteria*. J Heart Lung Transplant, 2002. **21**(3): p. 297-310.
10. Morrell, M.R., et al., *De novo donor-specific HLA antibodies are associated with early and high-grade bronchiolitis obliterans syndrome and death after lung transplantation*. J Heart Lung Transplant, 2014. **33**(12): p. 1288-94.
11. Ius, F., et al., *Early donor-specific antibodies in lung transplantation: risk factors and impact on survival*. J Heart Lung Transplant, 2014. **33**(12): p. 1255-63.
12. Snyder, L.D., et al., *Implications for human leukocyte antigen antibodies after lung transplantation: a 10-year experience in 441 patients*. Chest, 2013. **144**(1): p. 226-33.
13. Islam, A.K., et al., *Early clearance vs persistence of de novo donor-specific antibodies following lung transplantation*. Clin Transplant, 2017. **31**:e13028
14. Le Pavec, J., et al., *De-novo donor-specific anti-HLA antibodies 30 days after lung transplantation are associated with a worse outcome*. J Heart Lung Transplant, 2016. **35**(9): p. 1067-77.
15. McManigle, W., E.N. Pavlisko, and T. Martinu, *Acute cellular and antibody-mediated allograft rejection*. Semin Respir Crit Care Med, 2013. **34**(3): p. 320-35.
16. Hardy, J.D., et al., *LUNG HOMOTRANSPLANTATION IN MAN*. Jama, 1963. **186**: p. 1065-74.
17. Fischer, S.H., A. , *Lungen- und Herz-Lungentransplantation*, in *Transplantationsmedizin, Ein Leitfaden für den Praktiker*, M.G. Krukemeyer, Editor. 2006, de Gruyter: Berlin [u.a]. p. XXII, 335 S. : 147-166.
18. Cooper, J.D., et al., *Double-lung transplant for advanced chronic obstructive lung disease*. Am Rev Respir Dis, 1989. **139**(2): p. 303-7.

19. Neurohr, C., et al., *Potential functional and survival benefit of double over single lung transplantation for selected patients with idiopathic pulmonary fibrosis*. Transpl Int, 2010. **23**(9): p. 887-96.
20. Gottlieb, J., W. Gwinner, and C.P. Strassburg, *[Allocation systems in transplantation medicine : Advantages and disadvantages]*. Internist (Berl), 2016. **57**(1): p. 15-24.
21. Gottlieb, J., et al., *Introduction of the lung allocation score in Germany*. Am J Transplant, 2014. **14**(6): p. 1318-27.
22. Thabut, G., et al., *Determinants of the survival benefit of lung transplantation in patients with chronic obstructive pulmonary disease*. Am J Respir Crit Care Med, 2008. **177**(10): p. 1156-63.
23. Davis, S.Q. and E.R. Garrity, Jr., *Organ allocation in lung transplant*. Chest, 2007. **132**(5): p. 1646-51.
24. Egan, T.M., et al., *Development of the new lung allocation system in the United States*. Am J Transplant, 2006. **6**(5 Pt 2): p. 1212-27.
25. Kneidinger, N., et al., *Evaluation of Short-Term Outcome after Lung Transplantation in the Lung Allocation Score Era*. Thorac Cardiovasc Surg, 2015. **63**(8): p. 693-8.
26. Gries, C.J., et al., *Lung allocation score for lung transplantation: impact on disease severity and survival*. Chest, 2007. **132**(6): p. 1954-61.
27. Gottlieb, J., et al., *Lung Transplantation in Germany Since the Introduction of the Lung Allocation Score*. Dtsch Arztebl Int, 2017. **114**(11): p. 179-185.
28. Egan, T.M. and L.B. Edwards, *Effect of the lung allocation score on lung transplantation in the United States*. J Heart Lung Transplant, 2016. **35**(4): p. 433-9.

29. Hardt, C.G.-W., H., *Grundlagen der Transplantationimmunologie*, in *Transplantationsmedizin, Ein Leitfaden für den Praktiker*, M.G. Krukemeyer, Editor. 2006, de Gruyter: Berlin [u.a]. p. XXII, 335 S. : 01-23.
30. Eurotransplant. *Annual Report 2014*. [Internetquelle] 2014 28.04.2016 [cited 2016 28.04.]; Available from:  
[https://www.eurotransplant.org/cms/mediaobject.php?file=ar\\_2014.pdf](https://www.eurotransplant.org/cms/mediaobject.php?file=ar_2014.pdf).
31. DSO. *DSO Organspende und Transplantation*. [Internetquelle] 2014 28.04.2016 [cited 2016 28.04.]; Available from: <https://www.dso.de/organspende-und-transplantation/transplantation/lungentransplantation>.
32. DSO. *DSO Organspende und Transplantation*. [Internetquelle] 2016 11.01.2018 [cited 2018 11.01]; Available from: <https://www.dso.de/organspende-und-transplantation/transplantation/lungentransplantation.html>.
33. Snell, G.I., G.P. Westall, and M.A. Paraskeva, *Immunosuppression and allograft rejection following lung transplantation: evidence to date*. Drugs, 2013. **73**(16): p. 1793-813.
34. Neurohr, C. and J. Behr, *[Immunosuppression and infection prophylaxis after lung transplantation]*. Pneumologie, 2011. **65**(2): p. 94-102.
35. Christie, J.D., et al., *The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: 29th adult lung and heart-lung transplant report-2012*. J Heart Lung Transplant, 2012. **31**(10): p. 1073-86.
36. Penninga, L., et al., *Tacrolimus versus cyclosporin as primary immunosuppression for lung transplant recipients*. Cochrane Database Syst Rev, 2013. **5**: p. Cd008817.
37. Gottlieb, J., et al., *An Innovative Everolimus-Based Quadruple Low Immunosuppressive Regimen Compared to Standard Triple Regimen in Lung Transplant Recipients and Its Impact on Renal Function, Safety and Efficacy: The 4EVERLUNG Study Design*. The Journal of Heart and Lung Transplantation. **34**(4): p. S260-S261.

38. Gullestad, L., et al., *Two-year outcomes in thoracic transplant recipients after conversion to everolimus with reduced calcineurin inhibitor within a multicenter, open-label, randomized trial*. Transplantation, 2010. **90**(12): p. 1581-9.
39. Sommerwerck, U., et al., *[Lung transplantation]*. Herz, 2014. **39**(1): p. 74-83.
40. Martin-Gandul, C., et al., *The Impact of Infection on Chronic Allograft Dysfunction and Allograft Survival After Solid Organ Transplantation*. Am J Transplant, 2015. **15**(12): p. 3024-40.
41. Remund, K.F., M. Best, and J.J. Egan, *Infections relevant to lung transplantation*. Proc Am Thorac Soc, 2009. **6**(1): p. 94-100.
42. Verleden, G.M., et al., *Current views on chronic rejection after lung transplantation*. Transpl Int, 2015. **28**(10): p. 1131-9.
43. Verleden, G.M., et al., *A new classification system for chronic lung allograft dysfunction*. J Heart Lung Transplant, 2014. **33**(2): p. 127-33.
44. Meyer, K.C., et al., *An international ISHLT/ATS/ERS clinical practice guideline: diagnosis and management of bronchiolitis obliterans syndrome*. Eur Respir J, 2014. **44**(6): p. 1479-503.
45. Burton, C.M., et al., *Long-term survival after lung transplantation depends on development and severity of bronchiolitis obliterans syndrome*. J Heart Lung Transplant, 2007. **26**(7): p. 681-6.
46. Stewart, S., et al., *Revision of the 1996 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of lung rejection*. J Heart Lung Transplant, 2007. **26**(12): p. 1229-42.
47. Waßmuth, R., *Einführung in das HLA-System*. 2005, Landsberg/Lech: Ecomed. S. 166
48. Dausset, J., *[Iso-leuko-antibodies]*. Acta Haematol, 1958. **20**(1-4): p. 156-66.

49. Fischer, G.F. and W.R. Mayr, *Das HLA-System*, in *Transfusionsmedizin und Immunhämatologie*, V. Kiefel and C. Mueller-Eckhardt, Editors. 2010, Springer: Berlin (u.a.). XVII, 624 S.:189-202
50. Marsh, S.G., *Nomenclature for factors of the HLA system, update April 2010*. *Tissue Antigens*, 2010. **76**(6): p. 501-8.
51. Klein, J. and A. Sato, *The HLA system. First of two parts*. *N Engl J Med*, 2000. **343**(10): p. 702-9.
52. Martinu, T., et al., *Acute allograft rejection: cellular and humoral processes*. *Clin Chest Med*, 2011. **32**(2): p. 295-310.
53. Waßmuth, R., *Nachweis von HLA-Antigenen, HLA-Antikörpern und Histokompatibilität*, in *Transfusionsmedizin und Immunhämatologie*, V. Kiefel and C. Mueller-Eckhardt, Editors. 2010, Springer: Berlin (u.a.). p. XVII, 624 S.: 606-616.
54. Tait, B.D., *Detection of HLA Antibodies in Organ Transplant Recipients - Triumphs and Challenges of the Solid Phase Bead Assay*. *Front Immunol*, 2016. **7**: p. 570.
55. Heinemann, F.M., *HLA Genotyping and Antibody Characterization Using the Luminex Multiplex Technology*. *Transfus Med Hemother*, 2009. **36**(4): p. 273-278.
56. Olerup, O. and H. Zetterquist, *HLA-DRB1\*01 subtyping by allele-specific PCR amplification: a sensitive, specific and rapid technique*. *Tissue Antigens*, 1991. **37**(5): p. 197-204.
57. Lachmann, N., et al., *Luminex(R) and its applications for solid organ transplantation, hematopoietic stem cell transplantation, and transfusion*. *Transfus Med Hemother*, 2013. **40**(3): p. 182-9.
58. Baskaran, G., et al., *Efficacy of extracorporeal photopheresis in clearance of antibodies to donor-specific and lung-specific antigens in lung transplant recipients*. *J Heart Lung Transplant*, 2014. **33**(9): p. 950-6.

59. Hachem, R.R., et al., *Anti-human leukocyte antigen antibodies and preemptive antibody-directed therapy after lung transplantation*. J Heart Lung Transplant, 2010. **29**(9): p. 973-80.
60. Tikkanen, J.M., et al., *De novo DQ-donor-specific Antibodies are Associated with Chronic Lung Allograft Dysfunction After Lung Transplantation*. Am J Respir Crit Care Med, 2016;194:596-606
61. Ius, F., et al., *Preemptive treatment with therapeutic plasma exchange and rituximab for early donor-specific antibodies after lung transplantation*. J Heart Lung Transplant, 2015. **34**(1): p. 50-8.
62. Witt, C.A., et al., *Acute antibody-mediated rejection after lung transplantation*. J Heart Lung Transplant, 2013. **32**(10): p. 1034-40.
63. Roux, A., et al., *Antibody-Mediated Rejection in Lung Transplantation: Clinical Outcomes and Donor-Specific Antibody Characteristics*. Am J Transplant, 2016: p. 1216-1228.
64. Yousem, S.A. and A. Zeevi, *The histopathology of lung allograft dysfunction associated with the development of donor-specific HLA alloantibodies*. Am J Surg Pathol, 2012. **36**(7): p. 987-92.
65. Levine, D.J., et al., *Antibody-mediated rejection of the lung: A consensus report of the International Society for Heart and Lung Transplantation*. J Heart Lung Transplant, 2016. **35**(4): p. 397-406.
66. Zeevi, A., et al., *Persistent strong anti-HLA antibody at high titer is complement binding and associated with increased risk of antibody-mediated rejection in heart transplant recipients*. J Heart Lung Transplant, 2013. **32**(1): p. 98-105.
67. Loupy, A., et al., *Complement-binding anti-HLA antibodies and kidney-allograft survival*. N Engl J Med, 2013. **369**(13): p. 1215-26.
68. Laboratory, E.R. *Virtual PRA Calculator*. [Internetquelle] 2016 [cited 2016 1.3.]; Available from: <https://www.etrl.org/Virtual%20PRA/>

69. Knoop, C., A. Haverich, and S. Fischer, *Immunosuppressive therapy after human lung transplantation*. Eur Respir J, 2004. **23**(1): p. 159-71.
70. Quanjer, P.H., et al., *Lung volumes and forced ventilatory flows. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society*. Eur Respir J Suppl, 1993. **16**: p. 5-40.
71. Laboratories, A.T.S.C.o.P.S.f.C.P.F., *ATS statement: guidelines for the six-minute walk test*. Am J Respir Crit Care Med, 2002. **166**(1): p. 111-7.
72. Schmitzer, M., et al., *Persistence of de novo donor specific HLA-Antibodies after lung transplantation: a potential marker of decreased patient survival*. Hla, 2018;92:24-32
73. Ius, F., et al., *IgM-Enriched Human Intravenous Immunoglobulin-Based Treatment of Patients With Early Donor Specific Anti-HLA Antibodies After Lung Transplantation*. Transplantation, 2016. **100**(12): p. 2682-2692.
74. Roberts, J.A., et al., *The presence of anti-HLA donor-specific antibodies in lung allograft recipients does not correlate with C4d immunofluorescence in transbronchial biopsy specimens*. Arch Pathol Lab Med, 2014. **138**(8): p. 1053-8.
75. Brugiere, O., et al., *Lung transplantation in patients with pretransplantation donor-specific antibodies detected by Luminex assay*. Transplantation, 2013. **95**(5): p. 761-5.
76. Smith, J.D., et al., *Pre-transplant donor HLA-specific antibodies: characteristics causing detrimental effects on survival after lung transplantation*. J Heart Lung Transplant, 2014. **33**(10): p. 1074-82.
77. Zazueta, O.E., et al., *The Presence of Pretransplant HLA Antibodies Does Not Impact the Development of Chronic Lung Allograft Dysfunction or CLAD-Related Death*. Transplantation, 2017. **101**(9): p. 2207-2212.

78. Snyder, L.D., et al., *Antibody desensitization therapy in highly sensitized lung transplant candidates*. Am J Transplant, 2014. **14**(4): p. 849-56.
79. Kulkarni, H.S., B.C. Bemiss, and R.R. Hachem, *Antibody-mediated Rejection in Lung Transplantation*. Curr Transplant Rep, 2015. **2**(4): p. 316-323.
80. Angaswamy, N., et al., *Interplay between immune responses to HLA and non-HLA self-antigens in allograft rejection*. Hum Immunol, 2013. **74**(11): p. 1478-85.
81. Treede, H., et al., *Tacrolimus and cyclosporine have differential effects on the risk of development of bronchiolitis obliterans syndrome: results of a prospective, randomized international trial in lung transplantation*. J Heart Lung Transplant, 2012. **31**(8): p. 797-804.
82. Gatault, P., et al., *Reduction of Extended-Release Tacrolimus Dose in Low-Immunological-Risk Kidney Transplant Recipients Increases Risk of Rejection and Appearance of Donor-Specific Antibodies: A Randomized Study*. Am J Transplant, 2016.
83. Rodrigo, E., et al., *Within-Patient Variability in Tacrolimus Blood Levels Predicts Kidney Graft Loss and Donor-Specific Antibody Development*. Transplantation, 2016. **100**(11): p. 2479-2485.
84. Burton, C.M., et al., *Acute cellular rejection is a risk factor for bronchiolitis obliterans syndrome independent of post-transplant baseline FEV1*. J Heart Lung Transplant, 2009. **28**(9): p. 888-93.
85. Sharples, L.D., et al., *Risk factors for bronchiolitis obliterans: a systematic review of recent publications*. J Heart Lung Transplant, 2002. **21**(2): p. 271-81.
86. Berry, G., et al., *Pathology of pulmonary antibody-mediated rejection: 2012 update from the Pathology Council of the ISHLT*. J Heart Lung Transplant, 2013. **32**(1): p. 14-21.

87. Bamoulid, J., et al., *Clinical Outcome of Patients With De Novo C1q-Binding Donor-Specific HLA Antibodies After Renal Transplantation*. Transplantation, 2017. **101**(9): p. 2165-2174.
88. Yell, M., et al., *C1q Binding Activity of De Novo Donor-specific HLA Antibodies in Renal Transplant Recipients With and Without Antibody-mediated Rejection*. Transplantation, 2015. **99**(6): p. 1151-5.
89. Freitas, M.C., et al., *The role of immunoglobulin-G subclasses and C1q in de novo HLA-DQ donor-specific antibody kidney transplantation outcomes*. Transplantation, 2013. **95**(9): p. 1113-9.
90. Yabu, J.M., et al., *C1q-fixing human leukocyte antigen antibodies are specific for predicting transplant glomerulopathy and late graft failure after kidney transplantation*. Transplantation, 2011. **91**(3): p. 342-7.
91. Chin, C., et al., *Clinical usefulness of a novel C1q assay to detect immunoglobulin G antibodies capable of fixing complement in sensitized pediatric heart transplant patients*. J Heart Lung Transplant, 2011. **30**(2): p. 158-63.
92. Kauke, T., et al., *De novo donor-specific anti-HLA antibodies after kidney transplantation are associated with impaired graft outcome independently of their C1q-binding ability*. Transpl Int, 2017. **30**(4): p. 360-370.
93. Messina, M., et al., *Relationship among C1q-fixing de novo donor specific antibodies, C4d deposition and renal outcome in transplant glomerulopathy*. Transpl Immunol, 2015. **33**(1): p. 7-12.
94. Verleden, S.E., et al., *Advances in Understanding Bronchiolitis Obliterans After Lung Transplantation*. Chest, 2016. **150**(1): p. 219-25.
95. Roberts, D.M., S.H. Jiang, and S.J. Chadban, *The treatment of acute antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients-a systematic review*. Transplantation, 2012. **94**(8): p. 775-83.

96. Vacha, M., et al., *Antibody depletion strategy for the treatment of suspected antibody-mediated rejection in lung transplant recipients: Does it work?* Clin Transplant, 2017. **31**(3):e12886
97. Glanville, A.R., *Antibody-mediated rejection in lung transplantation: turning myth into reality.* J Heart Lung Transplant, 2013. **32**(1): p. 12-3.

## **7. DANKSAGUNG**

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Hauke Winter und Frau PD Dr. Teresa Kauke für die Überlassung des Themas meiner Dissertation sowie die hervorragende Betreuung und Unterstützung.

Frau Dr. Kauke danke ich für die vielen gemeinsamen Stunden, die wir mit diesem großen Projekt verbracht haben. Die gemeinsame Arbeit macht mir bis heute große Freude.

Darüber hinaus möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Labors für Immungenetik für ihre Unterstützung bedanken. Mein Dank gilt auch dem Team der Station H6 und den Mitarbeitern der Transplantationsambulanz.

Für die konstruktive Zusammenarbeit und hilfreichen Vorschläge möchte ich mich zudem bei Herrn PD Dr. Nikolaus Kneidinger bedanken.

Mein persönlicher Dank gilt nicht zuletzt meiner Familie, meinen Freunden und meinem Freund Markus, die mir während des Studiums zur Seite gestanden sind und mich immer unterstützen.

## **Eidesstattliche Versicherung**

Ich, Magdalena Schmitzer, erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

*Die klinische Relevanz von persistierenden de novo donorspezifischen HLA-Antikörpern auf die Transplantatfunktion und das Überleben bei Patienten vor und nach einer Lungentransplantation*

selbstständig 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.

Magdalena Schmitzer

München, 01.02.2020