

Aus der Klinik und Poliklinik für Herz- und Gefäßchirurgie,  
Universitäres Herzzentrum Hamburg-Eppendorf gGmbH  
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf  
Direktor: Prof. Dr. med. H. Reichenspurner, Ph.D.

## **Vergleich zweier immunsuppressiver Protokolle nach Lungentransplantation**

**-Eine prospektive randomisierte offene zwei-Center Studie-**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Universität Hamburg

Vorgelegt von

Oliver Deutsch

aus

Budapest

2005

Angenommen vom Fachbereich Medizin  
der Universität Hamburg am: 12.04.2006

Veröffentlicht mit der Genehmigung des Fachbereichs  
Medizin der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss: der/die Vorsitzende/r: Prof. Dr. H. Reichenspurner, Ph.D.

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter/in: Prof. Dr. J. Itzbicki

Prüfungsausschuss: 3. Gutachter/in: PD Dr. N. Kröger

Für meine Eltern

## Inhaltsverzeichnis

A	Einleitung.....	1
B	Ziel der Studie .....	4
C	Grundlagen .....	6
	1. Auswahlkriterien .....	6
	1.1 Spenderauswahl .....	6
	1.1.1 Organfunktion .....	6
	1.1.2 Ausschlußkriterien .....	7
	1.1.3 Organgröße .....	8
	1.2 Selektionskriterien für Lungenempfänger im Rahmen der Studie.....	8
	1.3 Organkonservierung .....	9
	2. Immunologische Grundlagen der Abstoßungsreaktionen .....	10
	Abstoßungsreaktionen beruhen auf einer Immunreaktion gegen körperfremde	10
	2.1 Hyperakute Abstoßungsreaktion .....	10
	2.2 Akute Abstoßungsreaktion.....	11
	2.3 Chronische Abstoßungsreaktion der Lunge.....	12
	3. Wirkung der immunsuppressiven Medikamente .....	12
	3.1 Cyclosporin A (Sandimmun®, Optoral®) .....	12
	3.1.1 Zellulärer Wirkmechanismus von Cyclosporin .....	13
	3.1.2 Pharmakokinetik von Cyclosporin.....	15
	3.1.3 Nebenwirkungen von Cyclosporin .....	15
	3.1.4 Wechselwirkungen zwischen Cyclosporin und anderen Medikamenten.	16
	3.2 Tacrolimus (Prograf®, FK-506).....	19
	3.2.1 Zellulärer Wirkmechanismus von Tacrolimus .....	19
	3.2.2 Pharmakokinetik von Tacrolimus .....	21
	3.2.3 Nebenwirkungen von Tacrolimus.....	21
	3.2.4 Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten .....	23
	3.3 Mycophenolate Mofetil (Cell Cept®, MMF) .....	25
	3.3.1 Wirkmechanismus von Mycophenolate Mofetil.....	25
	3.3.2 Pharmakokinetik von Mycophenolate Mofetil.....	26
	3.3.3 Nebenwirkungen von Mycophenolate Mofetil .....	27
	3.4 Antithymozyten Globulin (RATG, Firma Fresenius®) .....	27
	3.4.1 Wirkungsweise von Antithymozyten Globulin .....	27
	3.4.2 Pharmakokinetik von antithymozyten Globulin .....	28
	3.4.3 Toxizität von antithymozyten Globulin .....	28
D	Patienten und Methodik .....	29
	1. Patientengut .....	29
	1.1 Studienteilnehmer und Randomisierung.....	29
	1.2 Geschlecht und Altersverteilung .....	29
	1.2.1 Gesamtes Patientenkollektiv .....	29
	1.2.2 Münchener Patientenkollektiv .....	30
	1.3 Grunderkrankungen.....	31
	1.3.1 Grunderkrankungen im gesamten Patientenkollektiv.....	31
	1.3.2 Grunderkrankungen der Patienten in München-Großhadern.....	32
	2. Operative Technik .....	32
	2.1 Technik der thorakalen Organexplantation .....	32
	2.2 Unilaterale Lungentransplantation .....	33
	2.3 Bilaterale sequentielle Lungentransplantation .....	36
	3. Immunsuppressive Protokolle.....	37

3.1 Studienmedikation .....	37
3.2 Medikationsschema der immunsuppressiven Medikamente.....	38
3.3 Therapie der akuten Abstoßungsreaktion.....	39
3.4 Laborchemische Spiegelbestimmung von Cyclosporin und Tacrolimus .....	39
4. Postoperative Standarduntersuchungen.....	41
4.1 Diagnose der akuten Abstoßungsreaktion.....	41
4.1.1 Klinische Diagnose der akuten Abstoßungsreaktionen.....	41
4.1.2 Zytoimmunologisches Monitoring (ZIM).....	42
4.1.3 Histologische Einteilung der akuten Abstoßungsreaktion .....	43
4.2 Diagnose von Infektionen .....	45
4.3 Diagnose des Bronchiolitis obliterans Syndroms (BOS) und Bronchiolitis obliterans (OB) .....	46
4.3.1 Klinische Symptome und Befunde .....	47
4.3.2 Nicht-invasive diagnostische Verfahren.....	47
4.3.3 Invasive diagnostische Verfahren .....	50
5. Statistische Grundlagen und Berechnung der Überlebensraten.....	51
E Ergebnisse .....	53
1. Überlebensraten und Todesursachen .....	53
1.1 Perioperativ .....	53
1.1.1 Operation.....	53
1.1.2 Reperfusionsoödem.....	54
1.2 Überleben nach 30 Tagen .....	54
1.3 Überleben nach 3 Monaten .....	55
1.4 Überleben nach 6 Monaten .....	55
1.5 Überleben nach 12 Monaten .....	55
2. Retransplantation .....	57
3. Akute Abstoßungsreaktionen.....	58
4. Wechsel der Immunsuppression .....	61
5. Infektionen .....	61
5.1 Bakterielle Infektionen .....	61
5.2 Virale Infektionen.....	62
5.3 Fungale Infektionen .....	63
6. Nierenfunktion .....	64
7. Arterieller Hypertonus.....	65
8. Hyperlipidämie.....	65
9. Diabetes mellitus .....	66
10. Andere unerwünschte Wirkungen.....	67
11. Bronchiolitis obliterans Syndrom (BOS).....	68
11.1 Bronchiolitis obliterans Syndrom bei Patienten Wien und München.....	68
F Diskussion .....	69
1. Grunderkrankungen.....	69
2. Überleben nach LTX.....	69
3. Todesursachen.....	70
4. Infektionen .....	71
4.1. Allgemein.....	71
4.2 CMV-Infektionen.....	73
4.3 Aspergillus-Infektionen .....	76
5. Akute Abstoßungsreaktionen.....	79
6. Bronchiolitis obliterans Syndrom (BOS).....	81
7. Immunsuppressive Medikation .....	85
8. Unerwünschte Wirkungen der Immunsuppression .....	88

9. Schlußfolgerung und Ausblick .....	90
G Zusammenfassung .....	93
H Bibliographie .....	94
Lebenslauf .....	111
Danksagung .....	114
Erklärung .....	115

## A Einleitung

Bereits in den vierziger und fünfziger Jahren gelang im Tierexperiment die Durchführung von Lungentransplantationen. Der Physiologe Demikhov demonstrierte schon in den Jahren 1946 und 1947 die Transplantation von Herzen, Herz-Lungen und Lungen bei Hunden (Shumaker, 1994). Metras publizierte 1950 seine Erfahrungen über unilaterale Lungentransplantationen im Tiermodell mit Hunden, bei denen er Überlebenszeiten von über drei Wochen vorweisen konnte. Außerdem beschrieb Metras bereits vor fast 50 Jahren im wesentlichen die heute verwendete operative Technik der unilateralen Lungentransplantation (Metras, 1992). Etwa zeitgleich zeigten auch Hardin und Kittle in den Vereinigten Staaten von Amerika die technische Machbarkeit der Lungentransplantation (Hardin, Kittle, 1954).

Die erste Lungentransplantation am Menschen führte Hardy am 11. Juni 1963 an der Universität von Mississippi durch. Der Empfänger, ein 58-jähriger Mann mit einem nicht rezidierbarem Lungenkarzinom, verstarb am 18. postoperativen Tag an progressiven Nierenversagen (Dalton, 1995; Blumenstock, Lewis, 1993). In den sieben Jahren nach der Lungentransplantation durch Hardy unternahmen zwanzig verschiedene Chirurgen 23 Lungentransplantationen (Wildevuur, Benfield, 1970). Es verstarben alle Lungenempfänger, mit einer Ausnahme, innerhalb des ersten Monats nach der Transplantation. Der überlebende Patient, ein 23-jähriger Mann lebte noch 10 Monate (Derom et al., 1971).

Insgesamt wurden von Hardy`s erstem Versuch, bis zum Anfang der achtziger Jahre, etwa 40 Lungentransplantationen weltweit durchgeführt. Der erwünschte Langzeiterfolg blieb jedoch aus (Vogelmeier et al., 1996). Die meisten Patienten verstarben innerhalb der ersten zwei Wochen nach der Transplantation an primärem Transplantatversagen, Sepsis oder Abstoßung. Die häufigste Todesursache nach der zweiten postoperativen Woche waren Defekte der Bronchialanastomose.

Diese Defekte wurden als Wundheilungsstörungen aufgefaßt, hervorgerufen durch die zur Immunsuppression in der frühen Phase nach der Transplantation eingesetzten Kortikosteroide (Patterson, Cooper, 1995; Cooper et al., 1986).

Mit dem Einsatz des Immunsuppressivums Cyclosporin A in der Transplantationsmedizin, konnte erstmals eine adäquate Immunsuppression mit deutlich reduzierter Gabe von Kortikosteroiden erzielt werden. Dies machte Anfang der achtziger Jahre die ersten Herz-Lungentransplantationen der Stanford-Gruppe möglich (Reitz et al., 1982).

Nach isolierten Lungentransplantationen waren aber auch trotz geringerer Kortikoiddosen häufiger ischämiebedingte Insuffizienzen der Bronchusanastomose zu beobachten. Diese wurden auf eine mangelnde Blutversorgung zurückgeführt, nachdem die Bronchialanastomose nur über von den Pulmonalarterien gespeiste Kollateraläste versorgt wird. (Judson, 1993; Kaiser, Cooper, 1992; Tanoue, 1992; Trulock, 1992).

Die Chirurgen der Toronto Lung Transplant Group lösten 1983 dieses Problem mit der Technik der Omentopexie (Cooper et al., 1986). Dieselbe Gruppe führte 1986 die ersten Lungentransplantation mit Langzeiterfolg durch. In Folge dieser Entwicklung stieg die Zahl der weltweit durchgeführten isolierten Lungentransplantationen stark an. Bereits bis zum Jahr 1991 wurden 300 Einzel-Lungen-, 150 Doppel-Lungen- und 170 kombinierte Herz-Lungen-Transplantationen durchgeführt (Hosenpud, 1992).

Inzwischen wurde das Verfahren der Omentopexie aufgegeben und die Technik der Teleskop-Anastomose hat sich durchgesetzt. Dabei werden die Bronchien überlappend vernäht, so daß im Falle einer Ischämie ein transmuraler Defekt ausbleibt (Griffith et al., 1994).

Eine Weiterentwicklung dieses Verfahrens für die Einzel-Lungentransplantation stellt das Verfahren der sequentiellen bilateralen Doppel-Lungentransplantation dar.

Dabei wird zunächst ein Lungenflügel implantiert. Der Patient wird anschließend über diese Lunge beatmet, während das kontralaterale Transplantat eingesetzt wird. Die Herzlungenmaschine musste bei diesem Eingriff nur bei einem Teil der Patienten eingesetzt werden, wodurch das Risiko von Blutungskomplikationen reduziert werden konnte (Kaiser, Cooper, 1992; Kaiser et al., 1991).

Die o.g. Verbesserungen der operativen Verfahren, des intraoperativen anästhesiologischen Monitorings, der postoperativen intensivmedizinischen Versorgung und der Prophylaxe sowie Behandlung von Komplikationen und schließlich auch verbesserte immunsuppressive Medikamente machten es möglich, daß Einjahresüberlebensraten von etwa 70% erzielt werden konnten. Laut dem Register der ISHLT von 2005 wurden im Zeitraum von 1995 bis 06/2004 weltweit 6731 Einzel- und 6276 Doppel-Lungentransplantationen von über 150 Transplantationszentren gemeldet. Die Einjahresüberlebensrate liegt bei über 70% die Zwei-Jahres-Überlebensrate noch über 60%. Aktuell stellt die chronische Abstoßungsreaktion in Form der Bronchiolitis obliterans das Hauptproblem nach erfolgter Lungentransplantation dar. Nach einem Jahr nach Lungentransplantation versterben jährlich etwa ein Drittel der Patienten an einer chronischen Abstoßungsreaktion (Hosenpud et al., 1999).

Im Klinikum Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität München wurde, nachdem Reichart bereits in den achtziger Jahren die erste erfolgreiche Herz-Lungentransplantation in Deutschland durchführte, das Lungentransplantationszentrum 1991 eröffnet (Dienemann et al., 1994). Bis zum April 1999 wurden in München-Großhadern 102 Lungentransplantationen (62 Einzel-Lungen- und 40 Doppel-Lungentransplantationen) an 99 Patienten durchgeführt. Bis dato wurden über 200 Lungentransplantationen an diesem Zentrum durchgeführt. Am Allgemeinen Krankenhaus Wien wurden allein in den Jahren 1997 bis 2001 über 180 Lungen transplantiert.

## **B Ziel der Studie**

Die Lungentransplantation ist heute eine etablierte Behandlungsmethode für Patienten mit Lungenparenchym- und Lungengefäßerkrankungen im Endstadium. Trotz moderner Medikamente zur Verhinderung von Abstoßungsreaktionen liegen die 5-Jahres-Überlebensraten nur bei etwa 50% (Hosenpud et al., 1999).

Der limitierende Faktor im Langzeitverlauf Lungentransplantation ist die Entwicklung einer obliterativen Bronchiolitis, vermutlich als Form der chronischen Abstoßung. In multivarianten Studien wurde nachgewiesen, daß akute Abstoßungsreaktionen und Cytomegalievirus (CMV) Infektionen entscheidende Risikofaktoren für die Entwicklung der obliterativen Bronchiolitis sind (Bando et al., 1995).

Die Ergebnisse einer prospektiven, randomisierten Studie zeigten, daß die Kombinationstherapie bestehend aus Tacrolimus und Azathioprin, verglichen mit der Kombination von Cyclosporin und Azathioprin, mit einer nicht-signifikant niedrigeren Inzidenz von akuten Abstoßungsreaktionen und einer signifikant niedrigeren Inzidenz von obliterativer Bronchiolitis einher geht (Keenan et al., 1995) (Keenan et al., 1998).

In offenen randomisierten Studien wurde demonstriert, daß die progressive Entwicklung des Bronchiolitis obliterans Syndroms, die mit einer voranschreitenden Verschlechterung des FEV1 (forciertes respiratorisches Volumen in der 1. Sekunde im Atemstoßtest nach Tiffeneau) einher geht, durch einen Wechsel der Medikation von Cyclosporin auf Tacrolimus verhindert werden konnte (Ross et al., 1997; Lipson et al., 1998; Wiebe et al., 1998).

Außerdem deuten die Ergebnisse von verschiedenen Studien darauf hin, daß Mycophenolate Mofetil (MMF) in Verbindung mit Cyclosporin oder Tacrolimus ein höheres immunsuppressives Potential bei Herz- und Lungentransplantationen als Azathioprin (Aza) besitzt (Kobashigawa et al., 1998; Meiser et al., 1999; Zuckermann et al., 1999).

In einer retrospektiven Studie nach Lungentransplantation unserer Studiengruppe zeigte sich, daß sich bei der Therapie mit Tacrolimus und Mycophenolate Mofetil ein

größerer Patientenanteil ohne akute Abstoßungsreaktion und zweite akute Abstoßungsreaktion verblieb, als bei der Kombination von Tacrolimus mit Azathioprin oder von Cyclosporin mit Azathioprin. Das Sicherheitsprofil von Mycophenolate Mofetil war dabei ähnlich Azathioprin (Reichenspurner et al., 1999). Die mit den bestehenden immunsuppressiven Konzepten erzielten Ergebnisse bedürfen einer weiteren Verbesserung. Die oben genannten Studien über die Effektivität von Tacrolimus und MMF zeigten sich vielversprechend.

Aus diesem Anlaß wurde diese offene, prospektive, randomisierte zwei-Center Studie zum Vergleich zweier Konzepte zur Immunsuppression durchgeführt. Dabei sollten die Effektivität und Sicherheit beider immunsuppressiven Protokolle, zunächst an einer verhältnismäßig kleinen Zahl von Patienten, miteinander verglichen werden. Die durch diese Studie gewonnen Erkenntnisse sollten in die Durchführung einer extensiven Multi-Center-Studie münden, die mit größeren Patientenzahlen statistisch aussagekräftigere Daten liefern könnte. Primäre Endpunkte dieser Studie sind Inzidenz und Zahl von akuten Abstoßungsreaktionen und BOS als Form der chronischen Abstoßung. Sekundäre Endpunkte der Studie sind Patienten-Überleben nach einem Jahr nach Lungentransplantation und Häufigkeit von Infektionen und Nebenwirkungen.

## **C Grundlagen**

### **1. Auswahlkriterien**

#### **1.1 Spenderauswahl**

##### **1.1.1 Organfunktion**

Nach erfolgtem Hirntod stellt die Lunge ein extrem gefährdetes Organ dar, da oft eine Aspiration oder Atelektasenbildung mit nachfolgender Infektion und Ödembildung auftritt. Diese Komplikationen führen dazu, daß bei Multiorganspendern die Lungen häufig zur Organspende ungeeignet sind.

Die Kriterien für ein geeignetes Spenderorgan sind in Tabelle 1 wiedergegeben. Bei der Lungen- oder Herz-Lungenspende kommt prinzipiell jeder Multiorganspender in Frage, dessen Alter unter 60 bzw. 50 Jahren liegt. Bei Beatmung mit 30 % Sauerstoffbeimischung und einem positiven endexpiratorischen Druck (PEEP) von 5 cm Wassersäule sollte der arterielle Sauerstoffpartialdruck über 100 mm Hg, bei Beatmung mit 100 % Sauerstoff über 400 mm Hg liegen.

Der maximale Inspirationsdruck darf bei einem Atemhubvolumen von 10 bis 15 ml/kg KG 20 cm H<sub>2</sub>O nicht überschreiten. Die Beatmungsdauer sollte weniger als 7 Tage betragen, da bei einem längeren Zeitraum das Risiko einer Atemwegsinfektion steigt. Außerdem sollte das Röntgen-Thoraxbild des Organspenders keine pathologischen Befunde aufweisen.

Die kardiale Funktion des Spenders muss konstant und ausreichend sein, um eine Beeinträchtigung der Lungen durch Stauung oder Ödem ausschließen zu können. Vor Ort müssen Bronchoskopie, Inspektion und Palpation der Spenderorgane einen unauffälligen Befund ergeben.

*Tabelle 1: Selektionskriterien für Spenderorgane*

- 
- a. Alter: Lungentransplantation < 60 Jahre  
Herz-Lungentransplantation < 50 Jahre
  - b. Normales Röntgen-Thoraxbild
  - c. Beatmungsparameter:
    - FiO<sub>2</sub> = 1.0: paO<sub>2</sub> > 400 mmHg bei PEEP 5 cmH<sub>2</sub>O
    - FiO<sub>2</sub> = 0.3: paO<sub>2</sub> > 100 mmHg bei PEEP 5 cmH<sub>2</sub>O
    - maximaler Beatmungsdruck 20 cm H<sub>2</sub>O über PEEP
  - d. Beatmungsdauer < 7 Tage
  - e. Gute kardiale Funktion und Kreislaufstabilität (cave:  
durch pulmonale Stauung bedingtes kardiales Lungenödem)
  - f. Unauffälliger bronchoskopischer Befund
  - g. Unauffällige Inspektion und Palpation der Lungen  
vor Explantation
- 

### **1.1.2 Ausschlußkriterien**

Kontraindikationen zur Lungenentnahme sind thorakale Voroperationen mit starken pleuralen Verwachsungen, die nach Transplantation eine Quelle erhöhten Blutungsrisikos darstellen. Chronisch pulmonale Erkrankungen wie Asthma bronchiale, Emphysem oder pulmonaler Hochdruck führen ebenfalls zum Ausschluß des Organs. Eine bekannte Raucheranamnese ist als relative Kontraindikation zu betrachten und hängt letztendlich von der Funktion der Lunge, dem Ausmaß des Nikotinabusus, der Inspektion und Palpation der Organe und dem bronchoskopischen Befund ab.

Daneben sind auch akute Organschäden auszuschließen, wie z. B. traumatische Schäden, z. B. Lazerationen von Pleura oder Parenchym, Kontusionen mit frischen parenchymatösen Einblutungen mit gleichzeitiger Verschlechterung des Gasaustausches. Bei einseitiger Organentnahme ist eine akute Schädigung der kontralateralen Lunge keine zwingende Kontraindikation, wobei das zu explantierende Transplantat sorgfältig evaluiert werden muß. Weitere Ausschlußkriterien sind Nachweis einer Aspiration sowie Zeichen einer Infektion des Bronchialbaums bei der vor Ort durchgeführten Bronchoskopie.

### 1.1.3 Organgröße

Die primäre Organzuteilung erfolgt, wie bei der Herztransplantation, nach Blutgruppe, Größe und Gewicht von Spender und Empfänger. Da bei gleicher Körpergröße eine beachtliche Spannungsbreite der Intrathorakalvolumina vorkommt, ist die Übereinstimmung bestimmter intrathorakaler Durchmesser ein hilfreicher zusätzlicher Parameter. Diese werden anhand einer standardisierten Röntgen-Übersichtsaufnahme des Thorax erhoben, wobei Längs- und Querdurchmesser gemessen werden. Dabei wird eine Größendifferenz bis zu 20 % zwischen Spender und Empfänger als akzeptabel angesehen (wobei der Spender idealer Weise kleiner als der Empfänger sein sollte).

### 1.2 Selektionskriterien für Lungenempfänger im Rahmen der Studie

Tabelle 2 zeigt die Voraussetzungen, die von einem Organempfänger vor der Lungentransplantation erfüllt werden sollten. Tabelle 3 stellt die Kontraindikationen für Lungenempfänger dar.

*Tabelle 2: Selektionskriterien für Lungenempfänger Im Transplantationszentrum Großhadern und im Rahmen der Studie*

- 
- a. Alter unter 60 Jahren bei LTx, unter 50 Jahren bei DLTX und unter 45 Jahren bei HLTX
  - b. Klinisch und physiologisch schwere Erkrankung
  - c. Erhebliche Einschränkung der täglichen Aktivitäten
  - d. Eingeschränkte Lebenserwartung (12 bis 24 Monate aufgrund der Lungenerkrankung)
  - e. Angemessene Herzfunktion ohne erhebliche koronare Herzkrankheit
  - f. Guter Ernährungszustand
  - g. Zufriedenstellendes psychosoziales Profil und emotionale Unterstützung
  - h. Patienten beiderlei Geschlechts, die mindestens 18 Jahre alt sind (wegen Studie)
  - i. Lesen und Unterschreiben der Patienteneinwilligungserklärung (wegen Studie)
-

*Tabelle 3: Kontraindikationen für Lungenempfänger im Rahmen der Studie*

- 
- a. Eine Dysfunktion von wichtigen Organen außer der Lunge ist eine Kontraindikation. Insbesondere bei der Niereninsuffizienz mit einer Kreatinin-Clearance <50 mg/ml/min, wegen der Nephrotoxizität immunsuppressiver Medikamente
  - b. HIV-Infektion
  - c. Bestehende maligne Erkrankung innerhalb der letzten zwei Jahre, mit Ausnahme von Basalzellkarzinomen und Plattenepithelkarzinomen der Haut. Neuere Daten über Wiederauftreten von Tumoren post transplantationem weisen darauf hin, daß eine Wartezeit von 5 Jahren nach extrakapsulären Nierenzellkarzinomen eingehalten werden sollte. Bei Mammakarzinomen im Stadium 2 oder höher, bei Kolonkarzinomen in einem höherem Stadium als Dukes A und Melanomen über Grad III, ist eine Wartezeit von 2 Jahren angebracht
  - d. Hepatitis B, Antigen positiv
  - e. Hepatitis C, mit bioptisch erwiesenem Leberschaden
  - f. Patienten, die sich vorher einer anderen Organtransplantation unterzogen haben
  - g. Patienten, die andere Studienmedikationen erhalten
  - h. Schwangerschaft oder gebärfähigen Patientinnen, die keine effektive Geburtenkontrolle praktizieren
- 

### **1.3 Organkonservierung**

Ziel der Organkonservierung ist eine zufriedenstellende Protektion des Transplantates während der kalten Ischämiephase und eine Vermeidung eines Reperfusionsschadens nach erfolgter Implantation. Da die Technik und Durchführbarkeit wichtige Faktoren darstellen, hat sich die einmalige Perfusion eines Spenderorgans gegenüber dem Prinzip der kontinuierlichen Perfusion durchgesetzt.

In dieser Studie erfolgte die Perfusion aller Spenderlungen über die Pulmonalarterie mit Perfadex®. Nach erfolgreichen experimentellen Ergebnissen wurde diese neue Perfusionslösung mit niedrigerem Kaliumgehalt, die sogenannte Low-Potassium-

Dextran-(LPD)-Lösung (Perfadex®, Firma Vitrolife, Göteborg/Schweden) zur Lungenkonservierung eingesetzt. Dabei sollte die endotheliale Schädigung durch ein zu hohes Kalium vermieden werden - trotz ausreichender Ödemprophylaxe durch Dextran. Durch die Verwendung dieser Lösung konnte auch bei längeren Ischämiezeiten eine bessere postoperative Organfunktion und eine niedrigere Inzidenz des sogenannten pulmonalen Reperfusionsschadens, innerhalb der ersten 2 – 3 Tage nach Implantation, beobachtet werden (Muller et al., 1999).

## **2. Immunologische Grundlagen der Abstoßungsreaktionen**

Abstoßungsreaktionen beruhen auf einer Immunreaktion gegen körperfremde Antigene des Transplantats. Von Bedeutung sind die HLA-Antigene und die Hauptblutgruppen. Die letztgenannten sind für die Organtransplantation von größerer Bedeutung als für die Knochenmarkstransplantation. Alle übrigen genetischen Polymorphismen, etwa der Immunproteine oder der Komplementkomponenten, sind von geringerer Bedeutung.

### **2.1 Hyperakute Abstoßungsreaktion**

Die hyperakute Abstoßung tritt sehr rapide im Anschluß an die Transplantation ein. Sie beruht auf der Reaktion von präformierten Antikörpern, die durch frühere Sensibilisierung induziert wurden. Im Vordergrund stehen Antikörper gegen HLA-Antigene. Diese werden durch vorangegangene Bluttransfusionen, Schwangerschaften und vorausgegangene Abstoßungsreaktionen induziert. Außerdem können Isoagglutinine bei inkompatiblen Hauptblutgruppen zu hyperakuten Abstoßungsreaktionen führen.

Alle Transplantationskandidaten werden auf das Vorhandensein von zytotoxischen Antikörpern getestet. Liegt ein deutlich erhöhter Titer vor, wird vor der Transplantation ein Crossmatch zwischen Spender und Empfänger vorgenommen (Roitt I. et al., 1996). Auch die Behandlung mit Immunglobulinen stellt eine therapeutische Option dar. Unter diesen Vorsichtsmaßnahmen wurde diese mögliche Form der Abstoßungsreaktion beim Menschen bislang selten beobachtet.

## 2.2 Akute Abstoßungsreaktion

Die akute Abstoßung stellt primär eine zellvermittelte Entzündung in einem Organ dar, das vom Empfänger als fremd erkannt wird. Das transplantierte Organ wird aufgrund des Vorhandenseins von spezifischen Antigenen der Zelloberfläche, die im allgemeinen als Transplantationsantigene bezeichnet werden, als genetisch fremd wahrgenommen. Die Hauptrolle kommt in diesem Zusammenhang dem HLA-System mit den MHCs (major histocompatibility complex) der Klassen I und II zu. Das "fremde" MHC-Molekül kann von einem T-Zellrezeptor direkt erkannt werden (direct allorecognition).

Entscheidend für die Auslösung einer Abstoßungsreaktion ist die Aktivierung von T-Zellen mit Freisetzung einer Vielzahl von Zytokinen, die die Immunantwort steuern und amplifizieren. Zunächst wandern antigenpräsentierende Zellen in das Transplantat ein und setzen die Immunreaktion in Gang. Sie exprimieren HLA-Merkmale der Klasse II und geben Zytokine (z.B. IL-2, IL-4) ab. Alloreaktive Lymphozyten beginnen daraufhin zu reifen und zu proliferieren. Sie durchsetzen das Transplantat und lösen den Zerstörungsmechanismus aus. Der Mechanismus ist noch nicht in allen Einzelheiten aufgeklärt. Die Effektorzellen sind ausgezeichnet durch die Merkmale CD4 (Kennzeichen der T-Helfer-Zellen, diese produzieren Interleukine welche zytotoxische T-Zellen aktivieren) und CD8 (Kennzeichen von zytotoxischen T-Zellen). Freigesetzte Zytokine, vor allem Interferon- $\gamma$  (IF- $\gamma$ ), bedingen den Einstrom und die Aktivierung von Lymphozyten und Granulozyten. Histologisch stellt sich dies als Infiltration durch T-Lymphozyten, NK Zellen, Neutrophile und Eosinophile. All diese Zellen haben das Potential eine signifikante Rolle bei Abstoßungsprozessen zu führen (Virella et al., 1993).

Die meisten Episoden von akuten Abstoßungen treten in den ersten Wochen nach LTX auf. Später nimmt die Inzidenz ab, aber auch Jahre nach LTX sind noch Episoden akuter Abstoßung möglich.

## **2.3 Chronische Abstoßungsreaktion der Lunge**

Das Krankheitsbild der Bronchiolitis obliterans wird als Äquivalent einer chronischen Abstoßung in der transplantierten Lunge aufgefaßt. Sie ist eine entzündliche Reaktion im Bereich der Bronchiolen (und Bronchien) mit konsekutiver Fibrosierung und zunehmender Obliteration mit der Folge einer progredienten obstruktiven Ventilationsstörung (Kelly, Hertz, 1997; Reichenspurner et al., 1995). Sie tritt ab dem dritten Monat nach Transplantation auf – der mittlere Zeitpunkt des Auftretens beträgt 16 bis 20 Monate nach Transplantation. Die Prävalenz beträgt in den meisten Studien 35 bis 50 % nach 3 bis 5 Jahren.

Der wichtigste Risikofaktor für die Entwicklung einer Bronchiolitis obliterans sind schwerwiegende und/oder häufige Abstoßungsepisoden. Ursächlich dafür könnte sein, daß Bronchialepithelzellen MHC-Klasse II-Antigene exprimieren und möglicherweise in der Lage sind, Alloantigene zu präsentieren. Bei einem Teil der betroffenen Patienten führt eine Steigerung der Immunsuppression zu einer Besserung – auch ein möglicher Hinweis auf eine Bedeutung von Alloimmunmechanismen. Die gängigste Erklärung dafür, wie eine Abstoßung zur Bronchiolitis obliterans führen kann, ist die "response to injury"-Hypothese: Als Antwort auf eine Schädigung des Organs werden Reparaturprozesse aktiviert, die über Wachstumsfaktoren wie "transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) und "platelet derived growth factor" (PDGF) eine Fibrose bedingen.

In einigen Studien ergaben sich auch Anhaltspunkte für eine kausale Rolle von Cytomegalie-virusinfektionen, was aber in anderen nicht bestätigt werden konnte. Sofern der Cytomegalievirus eine Rolle spielt, ist der Mechanismus dafür unklar. Bekannt ist, daß Cytomegalieviren eine Aufregulation der Expression von MHC-Molekülen bewirken können (Reichenspurner et al., 1995).

## **3. Wirkung der immunsuppressiven Medikamente**

### **3.1 Cyclosporin A (Sandimmun®, Optoral®)**

Cyclosporin A ist ein hydrophobes, zyklisches Endekapeptid, das von dem Pilz *Tolypocladium inflatum* gebildet wird. Die Entdeckung von Cyclosporin A am Anfang

der siebziger Jahre (zunächst wurde es als Antibiotikum getestet) leitete eine Revolution in der Transplantationsmedizin ein, als es die ersten Langzeiterfolge nach Organtransplantationen ermöglichte (Borel, Kis, 1991). Es zeichnet sich durch einen sehr selektiven hemmenden Effekt auf Lymphozyten aus, der die frühe zelluläre Immunantwort auf antigene und regulatorische Stimuli inhibiert und, über die Hemmung der Freisetzung von Interleukin-1 (IL-1) aus Monozyten und Interleukin-2 (IL-2) aus Helfer-T-Zellen, die Ausreifen von T-Zellen zu cytotoxischen Zellen verhindert (Mutschler, 1996).

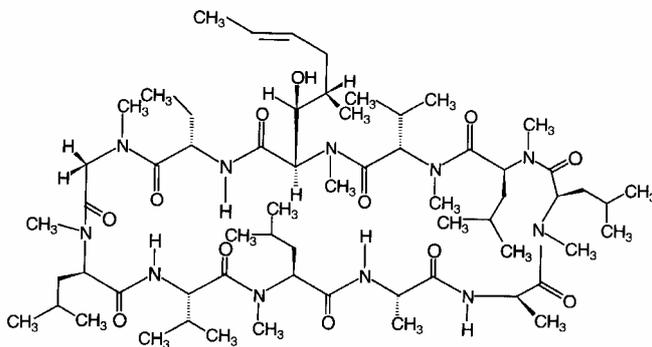


Abb.1: Strukturformel von Cyclosporin

### 3.1.1 Zellulärer Wirkmechanismus von Cyclosporin

Der immunsupprimierende Effekt tritt nach der Bildung eines heterodimeren Komplexes auf, der durch die Verbindung von Cyclosporin und einem zytoplasmatischen Rezeptorprotein, Cyclophilin, gebildet wird. Dieses Bindungsprotein wurde 1984 aus Lymphozyten isoliert und wegen seiner hohen Affinität zu Cyclosporin „Cyclophilin“ getauft. Der Cyclophilin-Cyclosporin-Komplex bindet an Calcineurin und hemmt dessen durch  $\text{Ca}^{2+}$  stimulierte Serin/Threonin Phosphatase Aktivität, die notwendig ist um Regulatorproteine im Zytosol zu dephosphorylieren. Diese Regulatorproteine werden nach der Abspaltung ihrer Phosphatgruppe in den Nukleus transloziert und dienen dort als Untereinheiten von Transkriptionsfaktor-Komplexen (Schreiber, 1992).

Ein solches Substrat von Calcineurin ist NFATc, eine zytosolische Untereinheit von NFAT (NFATc: nuclear factor of activated T cells, cytosolic; auch bekannt als NFATp,

von pre-existing). Es wird durch Calcineurin dephosphorisiert und kann dadurch zum Zellkern transloziert werden. NFATc reguliert, indem es sich an andere nukleäre Komponenten von NFAT (NFATn: nuclear factor of activated T cells, nuclear) bindet, die Expression zahlreicher Gene, einschließlich der Gene, die Interleukin-2 (IL-2), Interleukin-3 (IL-3), Interleukin-4 (IL-4), „granulocyte macrophage colony-stimulating factor“ (GM-CSF), Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) und Interferon- $\alpha$  kodieren (Rao, 1994) ((Liu, 1993).

Wo befinden sich die Bindungsstellen für die Cyclosporin-Cyclophilin-Komplexe? Calcineurin enthält zwei Untereinheiten: eine 59-kDa katalytische Untereinheit (catalytic subunit, CNA), die eine Calmodulin-Bindungsdomäne und eine autoinhibitorische Region beinhaltet, und eine 19-kDa intrinsische Calcium-bindende regulatorische Untereinheit (intrinsic calcium binding regulatory subunit, CNB). Die Calmodulin-bindende und die autoinhibitorische Domäne von CNA sind nicht notwendig für die molekulare Interaktion zwischen Calcineurin und den Medikamenten-Immunophilin-Komplexen, genauer Cyclophilin-Cyclosporin und FKBP-FK506 (FKBP= FK506 binding protein, wirkt über den gleichen Weg). Im Gegensatz dazu scheint die regulatorische Untereinheit von CNB eine obligatorische Rolle bei dieser Interaktion zu spielen, sie ist jedoch nicht in der Lage die Interaktion allein zu vermitteln. Wichtig ist auch ein bestimmter Anteil der CNA Untereinheit, nämlich eine Region innerhalb der katalytischen Domäne von CNA (Clipstone et al., 1994).

Cyclosporin ist also in der Lage die Calcineurinaktivität und damit die nachfolgenden Schritte der Signalkaskade zu unterdrücken. Darüber hinaus kann Cyclosporin die IL-2 Produktion durch eine vermehrte Expression von „transforming growth factor- $\beta$ “ (TGF- $\beta$ ) vermindern. TGF- $\beta$  ist ein Inhibitor der durch IL-2 stimulierten T-Zell Proliferation und der Entstehung von antigen-spezifischen cytotoxischen T-Zellen. Eine vermehrte Expression von TGF- $\beta$  könnte zur immunsupprimierenden Wirkung von Cyclosporin beitragen (Suthanthiran, Strom, 2000; Wiederrecht et al., 1993).

### 3.1.2 Pharmakokinetik von Cyclosporin

Cyclosporin kann intravenös oder per os verabreicht werden. Die biologische Verfügbarkeit beträgt etwa 20% bis 50 %. Die Spitzenwerte im Plasma werden für gewöhnlich 1,3 bis 4 Stunden nach Verabreichung erreicht. Cyclosporin hat ein relativ großes Verteilungsvolumen von 13 liter/kg. Im Gesamtblut akkumulieren etwa 50% bis 60% des Cyclosporins in den Erythrozyten. In Leukozyten befinden sich ca. 10% bis 20% des im Kreislauf befindlichen Cyclosporins.

Gemessen an der vergleichsweise kleinen Leukozytenfraktion sind dies hohe Werte und werden durch den hohen Cyclophillingehalt dieser Zellen erklärt. Der restliche Anteil von Cyclosporin im Blutkreislauf ist mit den Plasmalipoproteinen verbunden. Cyclosporin hat im Kreislauf eine Eliminationshalbwertszeit von etwa 6 Stunden. Es wird in der Leber zu mehr als 30 Metaboliten abgebaut, wobei starke interindividuelle Schwankungen im Metabolismus bestehen.

Hauptsächlich wird Cyclosporin durch das Enzymsystem Cytochrom P450 3A metabolisiert und dadurch in seiner immunsuppressiven Wirkung inaktiviert. Ob Abbauprodukte von Cyclosporin zur immunsuppressiven Wirkung oder Toxizität beitragen ist ungeklärt. Cyclosporin und seine Metaboliten werden vor allem über die Galle mit den Faeces ausgeschieden. Etwa 6% werden über die Niere ausgeschieden (Diasio, LoBuglio, 1996).

### 3.1.3 Nebenwirkungen von Cyclosporin

Die Daten über das Nebenwirkungsspektrum lieferten einerseits zwei große vergleichende prospektive Studien über Cyclosporin und Tacrolimus, die bei Patienten nach Lebertransplantation in den U.S.A. und Europa durchgeführt wurden; andererseits verschiedene Studien, die sich ausschließlich auf die Wirkung und Nebenwirkungen von Cyclosporin beschränkten (The U.S.Multicenter FK506 Liver Study Group, 1994; European FK506 Multicentre Liver Study Group, 1994).

Nephrotoxizität ist die schwerste potentielle Nebenwirkung, die beim Einsatz von Cyclosporin auftritt. Bei fast allen Patienten kommt es zu renalen Störungen und bei 5% bis 15% beobachtet man eine bleibende renale Dysfunktion (Rossi et al., 1993). In der europäischen Lebertransplantations-Studie wird die Zahl der Fälle von abnormer Nierenfunktion mit 31,4 % und von bleibendem Nierenversagen mit 6,5 % angegeben (European FK506 Multicentre Liver Study Group, 1994).

Der arterielle Hypertonus ist die häufigste Nebenwirkung mit einer Prävalenz von 20% bis 95% (Graham, 1994). Die Inzidenz von arteriellem Hypertonus betrug 42,2 % (European FK506 Multicentre Liver Study Group, 1994) resp. 56% (The U.S.Multicenter FK506 Liver Study Group, 1994). Zu den Nebenwirkungen gehören außerdem gastrointestinale und neurologische Phänomene wie Übelkeit/Emesis (15 %), Diarrhoe (47%), Kopfschmerzen (60%), Tremor (46 %) und Parästhesien (30 %) (Henry, 1999; The U.S.Multicenter FK506 Liver Study Group, 1994). Auch Gingivale Hyperplasie (51,5%) und Hypertrichosis (57 %) gelten als übliche Nebenwirkungen (Noble, Markham, 1995; Niese, 1995). In der europäischen Studie entwickelten in der Hauptphase der Studie 8,7 % der Patienten ein Diabetes mellitus (61 % insulinpflichtig, 4,9 % orale Antidiabetika) (European FK506 Multicentre Liver Study Group, 1994).

Die immunsuppressiven Wirkung von Cyclosporin bedingt gehäufte Infektions-episoden (38 %), Sepsis (22,8 %), Cytomegalievirus-Infektionen (25%) und Pneumonie (20,7 %) (Henry, 1999; European FK506 Multicentre Liver Study Group, 1994).

### **3.1.4 Wechselwirkungen zwischen Cyclosporin und anderen Medikamenten**

Cyclosporin wird hauptsächlich hepatisch durch das Enzymsystem Cytochrom P450 3A metabolisiert. Ein Medikament welches mit Cytochrom P450 durch Induktion, durch nicht-kompetitive Hemmung oder durch kompetitive Hemmung, hervorgerufen durch den eigenen Abbau, interagiert, wird folglich auch einen Effekt auf alle anderen Medikamente haben, die über den selben Weg abgebaut werden. Es gibt drei klinisch relevante Arten der Interaktion zwischen Cyclosporin und anderen

Medikamenten. Zunächst kann ein Medikament das oben genannte Enzymsystem induzieren und folglich den Abbau von Cyclosporin beschleunigen. Dadurch werden erniedrigte Blutkonzentrationen von Cyclosporin hervorrufen. Zweitens kann ein Medikament, das Cytochrom P450 inhibiert und den Abbau von Cyclosporin verlangsamt, erhöhte Wirkstoffspiegel hervorrufen. Die dritte Art der Wechselwirkung führt zu einer erhöhten oder additiven Nephrotoxizität von Cyclosporin. Sie wird durch Medikamente hervorgerufen, die selbst eine nierenschädigende Wirkung besitzen (Faulds et al., 1993).

Medikamente, die den Cyclosporin Metabolismus verlangsamen sind z.B. Makrolid-antibiotika, Azole, Kortikosteroide, Kalziumkanal-Blocker, H<sub>2</sub>-Histamin-Rezeptor-Antagonisten, orale Antikoagulantien und Sexualhormone. Medikamente, die den Cyclosporin-Metabolismus beschleunigen und damit zu erniedrigten Vollblutkonzentrationen führen können sind Antikonvulsiva und Antituberkulose Medikamente.

Erhöhte nephrotoxische Effekte beobachtet man bei Kombination mit Aminoglykosid-antibiotika, Diuretika, und selten mit nicht-steroidalen antiinflammatorischen Medikamenten.

Weitere beschriebene Wechselwirkungen sind gesteigerte gingivale Hyperplasie mit Nifedipin, Verstärkte Myopathie mit Statinen, epileptische Anfälle mit aluminiumhaltigen Medikamenten oder Ketokonazol plus Methylprednisolon sowie ein protektiver Effekt auf die Nieren mit Enalapril, Prazosin und Kalzium Kanal Antagonisten. In Tabelle 4 sind die Medikamente aufgeführt bei denen Wechselwirkungen mit Cyclosporin bekannt oder möglich sind (Faulds et al., 1993).

*Tabelle 4: Bekannte und mögliche Interaktionen zwischen Cyclosporin mit anderen Medikamenten, i.v.= intravenös (Faulds et al., 1993)*

Erhöhte Cyclosporin Vollblutkonzentrationen	Bekannt	Verdacht/Möglich
Antimikrobielle Medikamente	Erythromycin, Josamycin, Ketokonazol	Amikazin, Flukonazol, Itrakonazol, Metronidazol, Norfloxazin, Posinomycin, Pristinamycin, Roxithromycin, Ticarcillin, Tobramycin
Antimikrobielle Medikamente		
Kalzium Kanal Blocker	Diltiazem, Nifedipin, Verapamil	
Kortikosteroide		Methylprednisolon
H2-Histamin-Rezeptor-Antagonisten		Cimetidin, Ranitidin,
Orale Antikoagulantien		Warfarin
Sexualhormone		Danazol/Norethisteron, Levonorgesterol, Methyltestosteron
Andere		Amiodaron, Ethanol, Metoclopramid, Sulinac
<hr/>		
Erniedrigte Cyclosporin Vollblutkonzentrationen		
Antikonvulsiva	Carbamazepin, Phenobarbital, Phenytoin,	Primidon
Antimikrobielle Medikamente	Rifampicin	Pyracinamid, Sulphadiazin, Sulphadimidin i.v., Dipyron
Andere		Metoprolol, Ocreotid, Sulfinpyrazon
<hr/>		
Erhöhte Nephrotoxizität		
Antimikrobielle Medikamente	Amphotericin B, Gentamycin, Tobramycin, Trimethoprim	Aciclovir, Ceftacidim, Ciprofloxacin, Cotrimoxazol, Furesemid, Metolazon
Diuretika		
Nicht-steroidale Antiphlogistika		Diclophenac, Indometacin
Andere	Colchicin, Digoxin, Melphalan	Disopyramid, Doxorubicin

### 3.2 Tacrolimus (Prograf®, FK-506)

Tacrolimus wurde 1983 bei Screeninguntersuchungen von mikrobiell aktiven Substanzen in Bodenproben entdeckt, die auf die gemischte Lymphozyten-Reaktion (mixed lymphocyte reaction, MLR) und die mitogen-stimulierte Interleukin-2 (IL-2) Produktion getestet wurden. Tacrolimus konnte 1985 isoliert werden. Der Stamm, der Tacrolimus produzierte wurde, nach dem Fundort (Tsukuba Berg, Japan), als *Streptomyces tsukubaensis* bezeichnet (Kino et al., 1987; Tanaka et al., 1987). Es handelt sich um ein Makrolidantibiotikum, das einen hemiketal-maskierten  $\alpha,\beta$ -Diketonamid-Anteil besitzt, welcher funktionell in einen 23-gliedrigen Ring eingebaut ist (Diasio, LoBuglio, 1996; Tanaka et al., 1987a; Tanaka et al., 1987b).

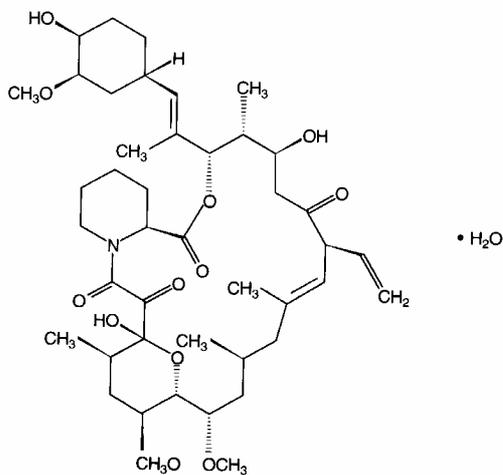


Abb.2: Strukturformel von Tacrolimus

#### 3.2.1 Zellulärer Wirkmechanismus von Tacrolimus

Die zellulären Wirkungen von Tacrolimus und Cyclosporin sind sehr ähnlich, obwohl ihre molekularen Strukturen keine Gemeinsamkeiten aufweisen. Tacrolimus entfaltet seine immunsuppressive Wirkung indem es selektiv an einen Rezeptor, ein sogenanntes Immunophilin, bindet. Dieser Rezeptor wird FKBP (FK 506 binding protein) genannt. FKBP12 ist die Isoform von der man die stärkste Zusammenwirkung mit dem immunsuppressiven Effekt von Tacrolimus annimmt (Morris, 1996).

Der Tacrolimus-FKBP12-Komplex bindet an die  $\text{Ca}^{2+}$ - und Calmodulin-abhängige Proteinphosphatase, Calcineurin, und hemmt dessen Aktivität (siehe 3.1.1 Zellulärer Wirkmechanismus von Cyclosporin). Dies unterbricht den kalziumabhängigen Signalübertragungsweg (calcium-dependent signal transduction pathway) in den T-Zellen. Es sei angemerkt, daß beide Komplexe FKBP-FK506 und Cyclophilin-Cyclosporin kompetitiv an Calcineurin binden und dieses hemmen, d.h. im Grunde über den selben Weg wirken, obwohl die Immunophiline (Cyclophilin und FKBP) verschieden sind (Liu et al., 1991).

Tacrolimus hemmt *in vitro*, in Konzentrationen die 10 bis 100 mal niedriger liegen als bei Cyclosporin, die Transkription von Genen der frühen Immunantwort die für die Aktivierung von T-Zellen wichtig sind. Damit verhindert Tacrolimus die Freisetzung von Interleukin-2 (IL-2) und anderen wachstumsunterstützenden Cytokinen (growth-promoting cytokines) wie Interleukin-3 (IL-3) und Interleukin-4 (IL-4), Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), „granulocyte-macrophage colony stimulating factor“ (GM-CSF) und Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Außerdem hemmt es die Transkription der Gene für Proto-Onkogene wie *ras*, *myc* und *rel* und unterdrückt die Expression von Interleukin-2 (IL-2)- und Interleukin-7 (IL-7)-Rezeptoren (Morris, 1996; Peters et al., 1993; deMattos et al., 1997; Manez et al., 1995; Morris, 1993; Thompson et al., 1995).

Tacrolimus unterdrückt die Zytokinproduktion, aufgrund von Stimulation von Helfer1-T-Zellen (wie z.B. IL-2, TNF- $\beta$  und IFN- $\gamma$ , die wichtig für die Zellvermittelte Immunität sind). Es stimuliert auch in schwächerem Maße Zytokine die von Helfer2-T-Zellen produziert werden ( z.B. IL-4, IL-5 und IL-10, die mehr in der Stimulation von B-Zellen und der Antikörperproduktion involviert sind) (Thompson et al., 1995).

Außerdem hemmt es die gemischte Lymphozytenreaktion (mixed lymphocyte reaction, MLR), sowie die Entstehung von cytotoxischen T-Zellen und T-Zell- und  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängige Aktivierung von B-Zellen (Peters et al., 1993; Thompson et al., 1995). Tacrolimus inhibiert nicht die sekundäre Proliferation von aktivierten T-Zellen als Antwort auf IL-2. Weiter hat es keine Wirkung auf Antigenpräsentation oder die Funktion von mononukleären Phagozyten und natürlichen Killerzellen (Morris, 1996; Peters et al., 1993; Manez et al., 1995; Thompson et al., 1995).

### 3.2.2 Pharmakokinetik von Tacrolimus

Tacrolimus kann intravenös und per os verabreicht werden. Die Absorption von Tacrolimus ist nach oraler Administration Schwankungen unterworfen und die orale Bioverfügbarkeit des Medikamentes ist niedrig (4 % bis 93 %, Mittelwert ca. 25 %) (Venkataramanan et al., 1995). Bei den meisten Patienten wird der maximale Blutspiegel nach 0,5 bis 1 Stunde erreicht, obwohl bei manchen Patienten ein flaches Absorptionsprofil beobachtet wird (die Durchschnittszeit bis zur maximalen Konzentration beträgt 2 Stunden). Die Absorptionsrate und Bioverfügbarkeit scheinen in allen Patientenpopulationen und unabhängig vom transplantierten Organ variabel zu sein.

Das Verteilungsvolumen beträgt 0,85 liter/kg (De Bell, 1997). Es ist zu 72 % bis 99 % an Plasmaproteine gebunden, abhängig von der Studienmethode. Es geht, anders als Cyclosporin, keine signifikante Verbindung mit der Lipoproteinfraktion im Plasma ein. Tacrolimus bindet an  $\alpha$ 1-Säure-Glykoprotein und Albumin und wird in Lymphozyten aufgenommen (Venkataramanan et al., 1995).

Tacrolimus wird in der Leber und zu einem geringeren Grade im Magen zu etwa 25 Metaboliten verstoffwechselt. Die Hauptmetaboliten sind 13-O-Demethyl-Tacrolimus und ein aktiver Metabolit 31-O-Demethyl-Tacrolimus. Das Cytochrom P450 Isoenzym CYP3A4 spielt die Hauptrolle bei der Metabolisierung von Tacrolimus in der Leber. Die wichtigsten Stoffwechselreaktionen sind dabei Hydroxylierung und Demethylierung. In Tierversuchen konnte gezeigt werden, daß der Hauptausscheidungsweg von Tacrolimus-Metaboliten biliär verläuft. Weniger als 1% werden unverändert renal ausgeschieden (Venkataramanan et al., 1995).

### 3.2.3 Nebenwirkungen von Tacrolimus

Das Nebenwirkungsspektrum von Tacrolimus ähnelt Cyclosporin. Die Daten über das Nebenwirkungsspektrum lieferten die beiden großen, prospektiven Studien zum Vergleich von Cyclosporin und Tacrolimus nach Lebertransplantation (The

U.S.Multicenter FK506 Liver Study Group, 1994; European FK506 Multicentre Liver Study Group, 1994).

Die meisten Nebenwirkungen, die mit Tacrolimus assoziiert sind, treten üblicherweise auch bei anderen immunsuppressiven Therapien auf. Die Nephrotoxizität gehört zu den schwersten Nebenwirkungen, wobei sowohl morphologische wie auch funktionelle Nierenveränderungen hervorgerufen werden können. Zu den Nebenwirkungen zählen weiter ein erhöhtes Infektionsrisiko (einschließlich Cytomegalievirus), Lymphome und andere maligne Erkrankungen (besonders der Haut und bei Langzeittherapie), eine mit Epstein-Barr-Virus assoziierte lymphoproliferative Erkrankung, Neurotoxizität und Diabetes mellitus (Peters et al., 1993).

Die European FK506 Multicenter Liver Study Group berichtet von einer Inzidenz von 31,4 % für renale Störungen und 21,1% für Oligurie. Bei der Amerikanischen Studie wurden ebenfalls nephrotoxische Nebenwirkungen beobachtet und so wurden 5,3 % der Patienten deswegen von der Studie ausgeschlossen. Auch gastrointestinale Nebenwirkungen traten in dieser Studie gehäuft auf. Bei den Patienten kam es zu Diarrhoe (72 %), Nausea (46 %) und Übelkeit/Erbrechen (27 %).

Bei der Gruppe der neurologischen Nebenwirkungen steht Tremor, mit einer Inzidenz von 56 % in der U.S. Multicenter Studie und 44,9 % in der europäischen Multicenter Studie, an erster Stelle. Parästhesien kamen bei 40 % (U.S. Studie) bzw. 13,5 % (europäische Studie) der Patienten vor. Zu Spasmen kam es bei 8,1 % der Patienten der europäischen Multicenter Studie. Andere neurologische Nebenwirkungen schließen Kopfschmerzen, Schlaflosigkeit und allgemeine Schmerzen ein.

Einen arteriellen Hypertonus entwickelten 47 % der Patienten in der amerikanischen Studie und 35,1 % der Patienten in der europäischen Studie. Fünfundvierzig Prozent resp. 30,8 % der Patienten der amerikanischen bzw. der europäischen Studie entwickelten eine Hyperglykämie. In der europäischen Studie entwickelten 15,1 % der Patienten einen manifesten Diabetes mellitus. Von diesen Patienten waren 67 % auf Insulin angewiesen und 8 % erhielten orale Antidiabetika. Weitere Nebenwirkungen waren metabolische Störungen wie Hyperkaliämie und Hypomagnesiämie.

Infektionen sind ein Resultat der immunsuppressiven Wirkung von Tacrolimus. Infektionsepisoden (40,5 %), Sepsis (18,4 %), CMV-Infektionen (15,7 %) und Pneumonie (11,9 %) wurden in der europäischen Studie beschrieben. Die Ergebnisse anderer Studien sind ähnlich (Spencer et al., 1997; Henry, 1999; The U.S.Multicenter FK506 Liver Study Group, 1994; European FK506 Multicentre Liver Study Group, 1994).

### **3.2.4 Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten**

Das Enzym Cytochrom P450 Isoenzym CYP 3A, welches bereits oben Erwähnung fand, spielt die Hauptrolle bei der hepatischen Metabolisierung von Tacrolimus und ist auch verantwortlich für die Oxidation von zahlreichen anderen Medikamenten, wie Kalziumkanal-Blockern, Kortikosteroiden, Cyclosporin und Makrolidantibiotika. Dadurch ergeben sich zahlreiche potentielle Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten. Arzneimittel, die dieses Enzymsystem induzieren oder inhibieren, können die Blutkonzentration von Tacrolimus beeinflussen (Spencer et al., 1997; Matsuda et al., 1996).

Weitere Interaktionen sind aufgrund der starken Bindung von Tacrolimus an Plasmaproteine zu beobachten. Deshalb ist bei gleichzeitiger Verabreichung von Medikamenten, die ebenfalls in hohem Maße an Plasmaproteine binden, wie z.B. orale Antikoagulantien, orale Antidiabetika und nicht-steroidale Antiphlogistika, Vorsicht geboten.

Bei gemeinsamer Verabreichung von Medikamenten, die nephrotoxisch wirken, besteht ein hohes Potential für synergistische Nephrotoxizität. Dies gilt für Aminoglykoside, Amphotericin B, Cisplatin und Cyclosporin (McCauley et al., 1990; Nalesnik et al., 1990). Für Medikamente wie Ganciclovir besteht, in ähnlicher Weise, ein hohes Potential für verstärkte Nierenschädigungen (McCauley et al., 1990).

Die gemeinsame Gabe von Tacrolimus und Mycophenolate Mofetil führte zu gesteigerten Blutkonzentrationen sowie gesteigerten AUC-Werten (AUC= area under

the curve) von Mycophenolsäure bis zu 12 Stunden nach Verabreichung. Die pharmakokinetischen Parameter von Tacrolimus blieben unverändert (Zucker et al., 1997). In Tabelle 5 sind mögliche Wechselwirkungen zwischen Tacrolimus und anderen Medikamenten dargestellt.

*Tabelle 5: Mögliche Wechselwirkungen zwischen Tacrolimus und anderen Medikamenten (Peters et al., 1993; Venkataramanan et al., 1995; De Bell, 1997; Matsuda et al., 1996; Mignat, 1997; Christians et al., 1996; Iwasaki et al., 1993)*

<b>Erhöhte Tacrolimus Vollblutkonzentration</b>	
Kalzium Kanal Antagonisten	Diltiazem, Nicardipin, Nifedipin, Nilvadipin, Verapamil
Antimykotika (Azole)	Clotrimoxazol, Fluconazol, Itraconazol, Ketoconazol, Miconazol
Makrolid-Antibiotika	Clarithromycin, Erythromycin, Josamycin, Troleandomycin,
Kortikosteroide	Kortikosteroide, Dexamethason, Methyprednisolon, Prednisolon
Andere	Bromocriptin, Captopril, Chloramphenicol, Cimetidin, Cyclosporin, Danazol, Ergotamin, Ethinylestradiol, Metoclopramid, Midazolam, Omeprazol, Quinidin, Sulinac, Tamoxifen
<b>Erniedrigte Tacrolimus Vollblutkonzentrationen</b>	
Antikonvulsiva	Carbamazepin, Phenobarbital, Phenytoin
Antibiotika	Rifabutin, Rifampicin,
Antazida	Aluminium Hydroxid, Magnesium Oxid, Natrium Bicarbonat
<b>Erhöhte Nephrotoxizität</b>	
	Aciclovir, Aminoglycoside, Amphotericin B, ACE-Hemmer, Cisplatin, Cotrimoxazol, Cyclosporin, Nicht-steroidale Antiphlogistika (Ibuprofen)

### 3.3 Mycophenolate Mofetil (Cell Cept®, MMF)

Bereits 1896 wurde Mycophenolsäure (Mycophenolic acid, MPA), der aktive Metabolit von Mycophenolate Mofetil (MMF), als Gärungsprodukt eines Pilzes der Gattung *Penicillium* isoliert und seine antifungale Wirkung beschrieben. MMF wurde entwickelt um die Bioverfügbarkeit von MPA bei oraler Gabe zu verbessern. Zunächst wurde es als Antibiotikum, antitumorales Medikament und als Mittel zur Behandlung der Psoriasis geprüft. Die Entwicklung des Medikamentes für die Behandlung der Psoriasis wurde jedoch nicht abgeschlossen, weil man zum damaligen Zeitpunkt dessen immunsuppressive Wirkung nicht erklären und einschätzen konnte. Erst zum Ende der achtziger Jahre erwachte das Interesse an Mycophenolsäure wieder als man auf der Suche nach einer Verbindung mit selektiver, antiproliferativer Wirkung auf Lymphozyten war. In Tierexperimenten war MMF Effektiv in der Inhibierung von Transplantatabstoßungen, der Verlängerung der Transplantatakteptanz und der Verminderung von akuten und chronischen Abstoßungsreaktionen (Lynch, Roenigk, 1977; Epinette et al., 1987; Kitchin et al., 1997; Sollinger, 1996).

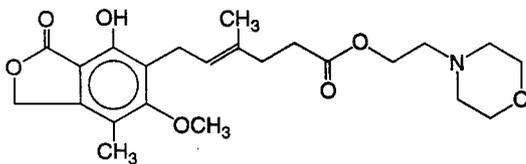


Abb.3: Strukturformel von Mycophenolate Mofetil

#### 3.3.1 Wirkmechanismus von Mycophenolate Mofetil

Mycophenolate Mofetil (MMF) ist ein 2-Morpholinoethyl Ester und eine Vorstufe von MPA, der aktiven Form des Medikaments, und wird in vivo sehr schnell zu MPA hydrolysiert. MPA ist ein starker, selektiver, nicht-kompetitiver und reversibler Inhibitor der Typ 2 Isoform der eukaryontischen Inosinmonophosphat-Dehydrogenase (IMPDH), dem Schlüsselenzym der de novo Synthese der Purine (Morris, 1993; Allison, Eugui, 2000). Es gibt zwei Isoformen von IMPDH, die von verschiedenen Genen kodiert werden. Isoform 1 wird hauptsächlich in ruhenden T- und B-Zellen exprimiert, wohingegen die Isoform 2 der IMPDH den Hauptanteil von IMPDH in

aktivierten T- und B-Zellen bildet. MPA wirkt besonders auf aktivierte T- und B-Zellen, weil nur die Isoform 2 selektiv gehemmt wird (Allison, Eugui, 1996).

Der selektive Effekt von MPA auf das Immunsystem erklärt sich dadurch, daß T- und B-Lymphozyten von der Neusynthese der Purine abhängig sind und nicht vom Wiederverwertungsstoffwechsel („salvage pathway“) der Purine, deren Schlüsselenzym die Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyl-Transferase ist. Lymphozyten, die wenig oder keinen Wiederverwertungsweg haben, werden von MPA eher beeinträchtigt als andere Blutzellen und Parenchymzellen, die stärker vom „salvage pathway“ der Purinbiosynthese abhängen (Franklin, Cook, 1969).

Mycophenolate Mofetil unterdrückt die Lymphozytenproliferation und die Bildung von Antikörpern in B-Zellen. Außerdem inhibiert es möglicherweise die Rekrutierung von Leukozyten an Entzündungsorten, indem es den Vorrat an Guanin-Nukleotiden von Leukozyten erschöpft und die Glykosylierung von Glykoproteinen der Lymphozyten, die für die Adhäsion an Endothelzellen benötigt werden, verhindert (Allison, Eugui, 2000).

### **3.3.2 Pharmakokinetik von Mycophenolate Mofetil**

Mycophenolate Mofetil (MMF) wird nach oraler Einnahme schnell absorbiert und wird zu freier Mycophenolsäure, dem aktivem Metaboliten, hydrolysiert. Die orale Bioverfügbarkeit von MMF beträgt 94%. Die Fläche unter der Plasmakonzentration-Zeit Kurve (AUC) ist normalerweise proportional zur Dosis (100 bis 3500 mg/d), es besteht jedoch eine vom Patienten abhängige Variation der Werte. Das Verteilungsvolumen beträgt ( $\pm$  Standardabweichung)  $4 \pm 1,2$  l/kg. Bei klinische relevanten Konzentrationen sind 95% des MPA an Plasmaalbumin gebunden. Die mittlere Plasmahalbwertszeit beträgt etwa 18 Stunden (Fulton, Markham, 1996).

MPA wird prinzipiell von der Glucuronyl-Transferase in der Leber metabolisiert. Der Phenol-Glucuronyl-Metabolit von MPA ist pharmakologisch nicht aktiv. Ein sehr geringer Teil wird unverändert als MPA ausgeschieden ( $< 1\%$ ), während etwa 90 %

des zugeführten Medikamentes als MPA-Glucoronid im Urin ausgeschieden wird (Diasio, LoBuglio, 1996; van den Berg et al., 1999). (Fulton, Markham, 1996)

### **3.3.3 Nebenwirkungen von Mycophenolate Mofetil**

Die Nebenwirkungen von Mycophenolate Mofetil wurden in einer multizentrischen, randomisierten, doppelblinden Studie nach Herztransplantation dokumentiert (Kobashigawa et al., 1998).

Die häufigsten Nebenwirkungen waren gastrointestinale Erscheinungen wie Übelkeit (54 %), Erbrechen (33,9%), Diarrhoe (45,3%), Ösophagitis (7,3%) und Gastritis (6,6%). Außerdem kam es zu Leukopenien (30,4 %) und pathologischen Leberfunktionsparametern (9,7 %). Eine weitere häufige Nebenwirkung sind Infektionen (53,3 %) (Kobashigawa et al., 1998).

Die unerwünschten Wirkungen von Mycophenolate Mofetil scheinen dosisabhängig zu sein. In einer Studie waren diese bei Patienten, die 2 g/d erhielten, weniger ausgeprägt als bei Patienten, die 3 g/d erhielten.

## **3.4 Antithymozyten Globulin (RATG, Firma Fresenius®)**

### **3.4.1 Wirkungsweise von Antithymozyten Globulin**

Das polyklonale antithymozyten Globulin ist das gereinigte und kommerziell hergestellte Immunglobulin von Pferden (horse-ATG, HATG), Kaninchen (rabbit-ATG, RATG), Schafen (sheep-ATG, SATG) oder Ziegen (goat-ATG, GATG), nachdem diese mit menschlichen Thymus-Lymphozyten immunisiert wurden. Es handelt sich um ein unspezifisches Antikörperpräparat. Das antithymozyten Globulin bindet an die Oberfläche von zirkulierenden T-Lymphozyten und verursacht dadurch eine abgeschwächte T-Zell-Immunantwort. Die Antikörper sollen zudem die Immunsuppression innerhalb der perioperativen Phase augmentieren. Die Induktionstherapie wird für gewöhnlich innerhalb der ersten drei bis zehn Tage nach Transplantation durchgeführt.

### **3.4.2 Pharmakokinetik von antithymozyten Globulin**

Antithymozyten Globulin wird als Lösung für intravenöse Injektionen angeboten. Es wird mit einer täglichen Dosierung von 10 bis 30 mg/kg Körpergewicht in Kochsalzlösung durch eine große oder zentrale Vene über mehrere Stunden verabreicht. Die Halbwertszeit der Immunglobuline beträgt zwischen 3 und 9 Tagen. Bei längerer oraler Gabe kommt es außerdem zum Wirkungsverlust durch Anti-Antikörperbildung.

### **3.4.3 Toxizität von antithymozyten Globulin**

Die wichtigsten toxischen Effekte von antithymozyten Globulin entstehen dadurch, daß es im Körper als fremdes Protein erkannt wird, wodurch es zu Serumkrankheit (serum sickness) und Nephritis kommen kann. Zu den Symptomen der Serumkrankheit zählen: Fieber, Schüttelfrost, Arthralgie, gastrointestinale Beschwerden, Cephalgie, Sehstörungen, Lymphadenopathie, Leukopenie, Thrombozytopenie und Serumexantheme (Bielory, Gascon, 1988). Außerdem wurde bei einer längeren Gabe eine erhöhte Inzidenz an später auftretenden Tumorerkrankungen beobachtet (Diasio, LoBuglio, 1996).

## **D Patienten und Methodik**

### **1. Patientengut**

#### **1.1 Studienteilnehmer und Randomisierung**

In dieser offenen, prospektiven, randomisierten zwei-Center Studie wurden zwei Patientenkollektive verglichen, die vom September 1997 bis April 1999 in München-Großhadern und dem AKH Wien lungentransplantiert wurden.

Die eine Gruppe erhielt als Basis-Immunsuppression Cyclosporin A (Sandimmun®, Optoral®, CyA), Mycophenolate Mofetil (Cell Cept®, MMF) und Kortikosteroide, die andere erhielt Tacrolimus (Prograf®, Tac), MMF und Kortikosteroide. Bei beiden Gruppen wurde eine Induktionstherapie mit RATG (Firma Fresenius®) post transplantationem durchgeführt.

Die Cyclosporin-Gruppe bestand aus 24 Patienten, während die Tacrolimus-Gruppe 26 Patienten zählte. Bei 10 Patienten der CyA-Gruppe wurde eine Einzel-Lungen- und bei 14 eine Doppel-Lungentransplantation durchgeführt. In der Tac-Gruppe wurde bei 13 Patienten eine Einzel-Lungentransplantation und bei 13 Patienten eine Doppel-Lungentransplantation durchgeführt. Es gab zwei Retransplantationen, von denen eine in München-Großhadern durchgeführt wurde. Beide Retransplantationen wurden bei Patienten der Cyclosporin-Gruppe durchgeführt.

#### **1.2 Geschlecht und Altersverteilung**

##### **1.2.1 Gesamtes Patientenkollektiv**

Die Tabelle 6 zeigt die demographische Verteilung der beiden Patientengruppen, die in München und Wien transplantiert wurden. Das Durchschnittsalter ( $\pm$ Standardabweichung) betrug in der Cyclosporin-Gruppe  $47\pm 13$  Jahre, resp.  $52\pm 13$  Jahre in der Tacrolimus-Gruppe. Es fällt auf, daß in der Cyclosporin-Gruppe die Zahl der Frauen im Verhältnis höher war als in der Tacrolimus-Gruppe. Darüber hinaus wurden in der Cyclosporin-Gruppe im Verhältnis mehr bilaterale

Lungentransplantationen durchgeführt als in der Tacrolimus-Gruppe. Zur Beurteilung der Strukturgleichheit der Therapiegruppen erfolgten für stetige Merkmale deskriptive Whitney-Mann-U-Tests, für dichotome Merkmale Fischer- $\chi^2$ -Tests.

*Tabelle 6: Demographie der beiden Patientengruppen (München-Großhadern und AKH Wien), MW=Mittelwert, Stabw=Standardabweichung, m=männlich, w=weiblich, CMV=Cytomegalievirus, S+=Spender positiv, E-=Empfänger negativ, DLTX=Doppel-Lungentransplantation, SLTX= Einzel-Lungentransplantation, n.s.=nicht statistisch signifikant*

	<b>Cyclosporin</b>	<b>Tacrolimus</b>	p-Wert der Prüfgröße
Patienten (n)	24	26	
Alter MW $\pm$ Stabw	47 $\pm$ 13	52 $\pm$ 13	0,199 n.s.
Geschlecht m/w	10/14	16/10	0,080 n.s.
CMV S+/E-	6/24	7/26	0,912 n.s.
DLTX/SLTX	14/10	13/13	0,572 n.s.

### 1.2.2 Münchener Patientenkollektiv

Die Tabelle 7 verdeutlicht die demographische Verteilung der beiden Patientengruppen die in München-Großhadern lungentransplantiert wurden. Das durchschnittliche Alter ( $\pm$ Standardabweichung) betrug in der Cyclosporin-Gruppe 44,0 $\pm$ 12,2 Jahre, resp. 48,2 $\pm$ 11 Jahre in der Tacrolimus-Gruppe. In der Cyclosporin-Gruppe waren mehr Frauen vertreten als in Tacrolimus-Gruppe. Weiter gab es in der Cyclosporin-Gruppe häufiger Doppel-Lungentransplantationen. Darüber hinaus war in der Tacrolimus-Gruppe die Anzahl von „CMV-Mismatching“ (Spender positiv / Empfänger negativ) höher als in der anderen Gruppe. Alle oben genannten Abweichungen der Werte der beiden Patientengruppen waren nicht signifikant. Zur Beurteilung der Strukturgleichheit der Therapiegruppen erfolgten für stetige Merkmale deskriptive Whitney-Mann-U-Tests, für dichotome Merkmale Fischer- $\chi^2$ -Tests.

*Tabelle 7: Demographie der Patientengruppen in München-Großhadern, MW=Mittelwert, Stabw=Standardabweichung, m=männlich, w=weiblich, CMV= Cytomegalievirus, S+=Spender positiv, E-=Empfänger negativ, DLTX=Doppel-Lungentransplantation, SLTX= Einzel-Lungentransplantation, n.s.=nicht statistisch signifikant*

	<b>Cyclosporin</b>	<b>Tacrolimus</b>	p-Wert der Prüfgröße
Patienten (n)	8	9	
Alter MW±Stabw	44±12	48±11	0,847 n.s.
Geschlecht m/w	1/7	5/4	0,225 n.s.
CMV S+/E-	1/7	4/5	0,090 n.s.
DLTX/SLTX	5/3	4/5	0,808 n.s.

### 1.3 Grunderkrankungen

#### 1.3.1 Grunderkrankungen im gesamten Patientenkollektiv

Tabelle 8 stellt die Verteilung der Grunderkrankungen im gesamten Patientenkollektiv (München-Großhadern und AKH Wien) dar. Es zeigt sich, daß die Zahl der Patienten mit der Grunderkrankung Lungenfibrose in der Cyclosporin-Gruppe nicht-signifikant (n=0,093) größer war, und daß die Zahl der Patienten mit der Diagnose Lungenemphysem in der Tacrolimus-Gruppe nicht-signifikant höher lag als in der Vergleichsgruppe.

*Tabelle 8: Verteilung der Grunderkrankungen und Eingriffe im gesamten Patientenkollektiv, SLTX= unilaterale Lungentransplantation, DLTX= bilaterale Lungentransplantation, OB=Bronchiolitis obliterans, PPH= Primär pulmonaler Hypertonus, KMT= Knochenmarktransplantation*

Diagnose (n)	<b>Cyclosporin</b>			<b>Tacrolimus</b>			P-Wert der Prüfgröße (insges.)
	<b>Insges.</b>	SLTX	DLTX	<b>Insges.</b>	SLTX	DLTX	
Lungenfibrose	<b>11</b>	9	2	<b>6</b>	5	1	0,093 n.s.
Lungenemphysem	<b>5</b>	0	5	<b>16</b>	7	9	0,076.n.s.
PPH	<b>2</b>	0	5	<b>1</b>	0	1	0,509 n.s.
Mukoviszidose	<b>2</b>	0	2	<b>1</b>	0	1	0,509 n.s.
□i-Antitrypsin-Mangel	<b>1</b>	1	0	<b>1</b>	0	1	0,954 n.s.
Lymphangiomyomatose	<b>1</b>	0	1	<b>0</b>	0	0	0,928 n.s.

OB nach KMT	<b>1</b>	0	1	<b>0</b>	0	0	0,928 n.s.
Vorhofseptumdefekt	<b>1</b>	0	1	<b>0</b>	0	0	0,928 n.s.
Sarkoidose	<b>0</b>	0	0	<b>1</b>	1	0	0,337 n.s.
<b>Σ</b>	<b>24 =100%</b>	10=42%	14=58%	<b>26 =100%</b>	13=50%	13=50%	

### 1.3.2 Grunderkrankungen der Patienten in München-Großhadern

Die Verteilung der Grunderkrankungen der in München-Großhadern transplantierten Patienten sind in Tabelle 9 zusammengefasst. Die Zahl der Patienten mit der Grunderkrankung Lungenemphysem lag in der Tacrolimus-Gruppe höher.

*Tabelle 9: Verteilung der Grunderkrankungen und Eingriffe in München-Großhadern, SLTX= unilaterale Transplantation, DLTX= bilaterale Transplantation, PPH= primär pulmonaler Hypertonus*

Diagnose (n)	Cyclosporin			Tacrolimus			P-Wert der Prüfgröße
	Insges.	SLTX	DLTX	Insges.	SLTX	DLTX	
Lungenfibrose	<b>4</b>	2	2	<b>3</b>	2	1	0,499 n.s.
Lungenemphysem	<b>0</b>	0	0	<b>3</b>	3	0	0,081 n.s.
PPH	<b>0</b>	0	0	<b>1</b>	0	1	0,346 n.s.
Mukoviszidose	<b>2</b>	0	2	<b>1</b>	0	1	0,467 n.s.
α1-Antitrypsin-Mangel	<b>1</b>	1	0	<b>1</b>	0	1	0,931 n.s.
Lymphangiomyomatose	<b>1</b>	0	1	<b>0</b>	0	0	0,289 n.s.
<b>Σ</b>	<b>8= 100%</b>	3= 37%	5=62,5%	<b>9=100%</b>	5=56%	4=44%	

## 2. Operative Technik

### 2.1 Technik der thorakalen Organexplantation

Nach medianer Sternotomie erfolgt die Eröffnung des Perikards sowie beider Pleurahöhlen, um eine eingehende Inspektion und Palpation der Organe auf pathologische Veränderungen hin zu ermöglichen. Nach Heparinisierung werden die zur Organperfusion notwendigen Kanülen in die Aorta ascendens bzw. in den Truncus pulmonalis eingebracht. Daraufhin beginnt die Perfusion des Herzens und der Lunge. Während der Organkonservierung werden diese mit einer kalten Kochsalzlösung umspült, um auch eine oberflächliche Kühlung der Organe zu erzielen. Die Lungen werden bis zur Organentnahme weiter beatmet, wobei die Sauerstoffzufuhr in der Inspirationsluft einen Gehalt von 50 % nicht überschreiten sollte. Auch Beatmungsdrücke über 20 mm Hg sollten vermieden werden.

Danach erfolgt die Exzision der Organe. Bei getrennter Herz-Lungentransplantation wird zunächst das Herz entfernt. Die Trachea wird am oberen Thorax direkt subthyreoidal freigelegt und umschlungen. Die Lungen werden zuletzt noch einmal gebläht, um etwaige Atelektasen aufzulösen; wiederum sollte ein maximaler Beatmungsdruck von 20 cm H<sub>2</sub>O nicht überschritten werden. Schließlich wird die Trachea mit einem Klammernahtgerät abgeklemmt und proximal der Klammerlinie durchtrennt. Der Lungenblock wird daraufhin explantiert, wobei dabei die Trachearückseite sorgfältig vom Ösophagus und hinterem Mediastinalgewebe abpräpariert wird.

Als letztes erfolgt das Aufteilen der beiden Lungenflügel im geblähten Zustand. Beide Lungen werden separat in mit kaltem Perfadex® (Firma Vitrolife, Göteborg/Schweden) gefüllten Plastikbeuteln steril verpackt und zum Transport in einem Kühlbox gelagert.

## **2.2 Unilaterale Lungentransplantation**

Für die unilaterale Lungentransplantation wird der Empfänger in überstreckter Seitenlage positioniert. Die Inzision erfolgt im 4. oder 5. Interkostalraum anterolateral mit der Möglichkeit zur posterioren Verlängerung. Bei linksseitiger Transplantation wird die linke Leistenregion für einen fakultativen kardiopulmonalen Bypass freigehalten, da Hohlvenen und Aorta ascendens ohne Schnitterweiterung über das Sternum hinweg von links nicht zu erreichen sind. Den Einsatz der Herz-Lungen-Maschine können verschiedene Umstände notwendig machen. Diese können bei bestimmten Grunderkrankungen präoperativ absehbar sein, z.B. bei Patienten mit pulmonalem Hypertonus und/oder kardialer Dysfunktion. Der Einsatz der extrakorporalen Zirkulation kann aber auch intraoperativ, im Falle einer kardialen Dekompensation, notfallmäßig erfolgen.

Bei der rechtsseitigen und bilateralen Transplantation erfolgt der eventuell notwendige Anschluß der extrakorporalen Zirkulation intrathorakal. Dabei wird das rechte Atrium kanüliert und die Aorta ascendens als Zufluß mit einer Kanüle versehen.

Bei linksseitigen Transplantationen wird die extrakorporale Zirkulation zunächst über die linke V. und A. femoralis angeschlossen. Zur weiteren Volumenentlastung kann die A. pulmonalis über den rechten Ausflußtrakt kanüliert werden.

Nach Durchtrennung der Interkostalmuskulatur wird das Vorhandensein von pleuralen Verwachsungen überprüft. Diese müssen vorsichtig unter sofortiger Blutstillung durchtrennt werden. Die Auslösung der Lunge erfolgt, falls vom Patienten toleriert, in Atelektase, was durch einen Doppellumentubus ermöglicht wird und die Präparation vereinfacht. Verwachsungen mit dem Mediastinum müssen besonders sorgfältig gelöst werden um den N. phrenicus zu schonen.

Nach Durchtrennung des Lig. pulmonale kann der Lungenhilus umfaßt werden um die Exposition von Pulmonalvenen, Pulmonalarterie und Hauptbronchus zu vereinfachen. Die Pulmonalvenen und Pulmonalarterienhauptstamm werden dargestellt und angeschlungen. Nunmehr wird die Pulmonalarterie mittels Gefäßklemme unter Kontrolle des Pulmonaldruckes, des systolischen Blutdruckes, der arteriellen Sauerstoffspannung ( $\text{PaO}_2$ ) und des Herz-Zeit-Volumens probatorisch verschlossen. Wird die Maßnahme über mehr als fünf Minuten toleriert, so kann der Eingriff ohne Installation der extrakorporären Zirkulation fortgesetzt werden. Andernfalls wird sofort nach Gabe von Heparin unmittelbar mit dem Anschluß der Herz-Lungen-Maschine begonnen. Die perihiläre Dissektion wird unter Beachtung der Vagusnerven bzw. der Nn. recurrentes fortgesetzt.

Sofort nach Eintreffen des Spenderorgans wird die erkrankte Lunge entnommen. Die Pulmonalvenen werden ligiert und durchtrennt. Danach wird die Pulmonalarterie entlang einer Gefäßklemme zur Peripherie hin mit dem Skalpell durchtrennt. Der Hauptbronchus wird nun stumpf umfahren und soweit zentral wie möglich mit dem Klammernahtgerät verschlossen und distal hiervon abgesetzt. Die Verbindungen zum hinteren Mediastinum werden mittels elektrischem Messer durchtrennt. Sicherheitshalber wird die Bronchialarterie umfaßt und umstoßen. Die Blutstillung im hinteren Mediastinum muß besonders gründlich erfolgen, weil hier eine Blutung nach erfolgter Transplantation besonders schwer einzustellen ist. Unter Zug an den Ligaturen der Pulmonalvenen wird das Perikard in Höhe des linken Vorhofes umschnitten und der Vorhof dorsal auch so weit ausgelöst, daß er 1 bis 2 cm zentral

der Pulmonalveneneinmündung unter Beobachtung des systemischen Blutdruckes mittels Satinski-Klemme gefaßt werden kann. Auf der rechten Seite muß zuvor der Sulcus interarterialis durch scharfe Präparation vollständig entwickelt werden. Anschließend können die Pulmonalvenenstümpfe durch quere Inzision zu einem gemeinsamen Ostium verbunden werden.

Erst zu diesem Zeitpunkt wird das Spenderorgan der Kühlbox entnommen und zur Implantation vorbereitet. Die den Hauptbronchus verschließende Klammernaht wird möglichst oberlappennah entfernt und damit das Organ entlüftet. Nach Absaugung des Bronchialsystems und Entnahme von Abstrichen wird die Spenderlunge in den Situs positioniert und mit Eiswasser getränkten Kompressen gekühlt.

Zunächst werden die Vorhöfe anastomosiert. Die Naht wird ventral vollendet aber wegen der späteren Entlüftung der Lungenstrombahn noch nicht geknüpft. Der nächste Schritt ist die End-zu-End-Anastomosierung der Hauptbronchusstümpfe. Nachdem die Klammernahtreihe am Spenderbronchus entfernt ist, beginnt die Anastomosierung an der Hinterwand.

Die Adaptation der Bronchusstümpfe erfolgt erst nach Anlegen von jeweils perikartilaginär gestochenen Ecknähten. Die Naht der Vorderwand erfolgt in Einzelknopftechnik, wobei die Fäden jeweils einen Knorpelring auf der Spender- bzw. Empfängerseite so umgreifen, daß beim Knüpfen eine Überlappung bzw. Einstülpung im Knorpelanteil entsteht (Teleskoptechnik). Sofort nach Fertigstellung wird bronchioskopisch kontrolliert, um Fehlstiche oder Abknickungen auszuschließen. Zur Deckung der Anastomose wird peribronchiales Gewebe verwendet, gegebenenfalls wird zusätzlich das meist überschüssige Spenderperikard aufgesteppt. Zuletzt erfolgt die Anastomose der Pulmonalarterienstümpfe. Der Stumpf muß meist spenderseitig erheblich gekürzt werden, um Abknickungen zu vermeiden.

Nun folgt die Entlüftung der Pulmonalstrombahn, indem die Fäden der Vorhofanastomose mit einer Pinzette gelockert werden. Außerdem wird die kaliumreiche Perfusionslösung über 20 bis 30 Sekunden ausgespült. In umgekehrter Richtung erfolgt eine kurzfristige Entlüftung des Empfängervorhofes unter Eröffnung der Satinski-Klemme. Als nächstes wird die Vorhofanastomose endgültig verknüpft,

daraufhin das Transplantat orthograd perfundiert und nach gründlichem Absaugen von Sekret und Blutresten belüftet. Die mit Eiswasser getränkten Kompressen werden entfernt und der Situs mit Sauger und Tupfern von Blutresten befreit, so daß die Anastomosen beurteilt werden können. Besonders gründlich müssen die spenderseitigen Bindegewebsstrukturen in Hilusnähe einschließlich Lig. pulmonale begutachtet werden. Die Pulmonalanastomosen werden mit Fibrinkleber zusätzlich gesichert. Großlumige Drainagen werden hilusnah angelegt und kaudal ausgeleitet. Es folgt ein schichtweiser Wundverschluß nach Anlage von Perikostalnähten.

### **2.3 Bilaterale sequentielle Lungentransplantation**

Die bilaterale sequentielle Lungentransplantation ist die Weiterentwicklung der von der Toronto-Gruppe eingeführten "en-bloc"-Transplantationstechnik (Reichenspurner et al., 1999). Die sequentielle Technik ist die Summe zweier nacheinander durchgeführter unilateraler Lungentransplantationen, wobei ein kardiopulmonaler Bypass nicht obligat ist.

Der Zugang erfolgt durch eine bilaterale transversale Thorakosternotomie. Durch die Rückenlage und den Zugangsweg entfällt die intraoperative Umlagerung des Patienten. Alternativ können beidseits anterolaterale Thorakotomien durchgeführt werden, wobei der Patient intraoperativ umgelagert werden muss. Beginnend mit der schlechter perfundierten Seite wird die Pleura im 5. Interkostalraum am Unterrand des M. pectoralis über eine anterolaterale Inzision eröffnet, wobei die Latissimusvorderkante respektiert wird. Die Mammariagefäße müssen mit Durchstechung versorgt werden. Unter ventraler Eröffnung des gegenseitigen Interkostalraumes und durch Einsatz eines Rochardhakens oder Rippenspreizers kann eine ausgezeichnete Exposition der betreffenden Seite erreicht werden. Die einzelnen Präparationsschritte entsprechen denen der unilateralen Transplantation.

Der Einsatz der extrakorporalen Zirkulation hängt auch hier von der systemischen Reaktion auf die Pulmonalarterienabklemmung ab, d.h. wird diese Maßnahme für mehr als 5 Minuten ohne signifikanten Anstieg des pulmonalarteriellen Druckes bzw. ohne Abfall des systolischen Blutdruckes und ohne Verringerung der arteriellen

Sauerstoffspannung (PaO<sub>2</sub>) vertragen, kann auf die Herz-Lungen-Maschine verzichtet werden. Falls die extrakorporale Zirkulation installiert werden muß, wird die Inzision auf der Gegenseite so weit nach lateral geführt, daß die großen Gefäße problemlos erreicht werden können. Andernfalls wird die Inzision auf der Gegenseite erst nach Implantation der ersten Lunge vorgenommen.

Die Transplantation der zweiten Lunge erfolgt wiederum in der gleichen Weise wie für die einseitige Transplantation beschrieben. Nach beidseitiger Drainageeinlage wird das Sternum mit drei Drahtnähten wieder vereinigt und die Rippen werden zu beiden Seiten mit Perikostalnähten adaptiert. Zuletzt folgt schichtweise der Verschluß der Weichteile mit fortlaufenden Nähten.

### 3. Immunsuppressive Protokolle

#### 3.1 Studienmedikation

Folgende immunsuppressive Medikamente wurden in unserer Studie verwendet:

*Tabelle 10: Studienmedikation*

- 
- a. Cyclosporin Optoral® (Novartis) zur oralen Applikation  
Optoral liegt in Kapseln bzw. als Lösung zu 25, 50 und 100 mg vor.
  - b. Cyclosporin Sandimmun® (Novartis) zur i.v. Gabe  
Zur i.v. Applikation liegt Cyclosporin in 1 und 5 ml Ampullen vor (1ml = 50 mg)
  - c. Tacrolimus Prograf® (Fujisawa) zur oralen Applikation  
Prograf® liegt zur oralen Applikation in Kapseln von 1 mg und 5 mg vor.
  - d. Tacrolimus Prograf® (Fujisawa) zur i.v. Gabe  
Zur i.v. Applikation liegt Tacrolimus in 1 ml Ampullen mit einer Konzentration von 5 mg/ml vor.
  - i. Mycophenolate Cell Cept® (Roche) zur oralen Gabe  
Mycophenolate liegt in 250 mg Kapseln und 500 mg Tabletten vor
  - j. Methylprednisolon Urbason®
  - k. Prednison Decortin H®
  - l. Polyklonales antithymozyten Globulin, RATG Fresenius®
-

### 3.2 Medikationsschema der immunsuppressiven Medikamente

Ziel der Immunsuppression war es, die Patienten langfristig mit einer Zweifach-Kombination aus entweder Cyclosporin oder Tacrolimus und Mycophenolate zu behandeln. In der frühen postoperativen Phase wurde zusätzlich Methylprednisolon bzw. Prednison verabreicht. Davon sollten die Patienten (wenn möglich innerhalb des ersten halben Jahres) entwöhnt werden.

Bei den Patienten der Cyclosporin-Gruppe wurde sofort postoperativ eine kontinuierliche intravenöse Therapie (Sandimmun®, Novartis) mit einer Dosis von 1 mg/kgKG/d eingeleitet (angezielte Vollblutspiegel 250-300 ng/dl gemessen mit Syva EMIT®, monospezifische Methode). Nach der Extubation wurde auf orale Gabe (Optoral®, Novartis) umgestellt und die Dosis (etwa 3-5 mg/kgKG/d) auf die angezielten Vollblutspiegel von 250-300 ng/dl ausgerichtet, wobei das Medikament alle 12 Stunden verabreicht wurde. Eine Induktionstherapie mit polyklonalem antithymozyten Globulin (RATG, Fresenius AG®, Bad Homburg) wurde an den ersten drei postoperativen Tagen mit einer Dosis von 5 mg/kgKG/d durchgeführt. Intraoperativ wurden vor dem Öffnen der Gefäßklemmen 500 mg Methylprednisolon verabreicht. Danach wurden noch zweimal 125 mg Urbason jeweils im Abstand von 8 Stunden gegeben. Prednison (Decortin® H, Merck KG) wurde mit einer postoperativen Dosis von 1,0 mg/kgKG/d gestartet und über die folgenden sechs Wochen auf eine Erhaltungsdosis von 0,15 mg/kgKG/d reduziert.

Mycophenolate Mofetil (Cell Cept®, Roche) wurde initial in einer Dosis von 2x1g/d über Magensonde verabreicht. Später wurde es in einer Dosis von 1-4 g/d verabreicht mit angestrebten Mycophenolsäure Spiegeln (MPA, aktiver Metabolit) im Vollblut von 2,5-4,5 ng/ml (Immunoassay, Abbot TDx®). Das Medikament musste in 12-stündigen Abständen gegeben werden. Für die enterale Darreichung über den Magenschlauch wurden die Kapseln geöffnet und der Inhalt in 5 % Dextrose gelöst.

Tacrolimus (Prograf®, Fujisawa) wurde postoperativ mit einer kontinuierlichen intravenösen Dosis von 0,05 mg/kgKG/d verabreicht. Nach der Extubation wurde auf orale Gabe konvertiert mit einer Dosis 0,1-0,3 mg/kgKG/d und angestrebten Vollblutspiegeln von 12-15 ng/ml (gemessen mit MEIA, Abbot TDx®). Tacrolimus wurde

von den Patienten alle 12 Stunden eingenommen. Die Prednison-, MMF- und RATG-Therapie erfolgte analog der Cyclosporin-Gruppe.

### **3.3 Therapie der akuten Abstoßungsreaktion**

Die Basistherapie der akuten Abstoßung besteht in der Gabe von je 500 mg Methylprednisolon i.v. über drei bis fünf Tage. Auch empfiehlt sich ein temporäres Anheben der oralen Steroiddosis auf 0,5-1,0 mg/kgKG/d Prednisonäquivalent, gefolgt von einer langsamen Dosisreduktion. Resistente Abstoßungsreaktionen werden zunächst mit einem zweiten Steroidbolus therapiert (erneut 3-5 Tage 500 mg Prednisolonäquivalent). Steroidresistente Abstoßungen können durch einen Wechsel des primären immunsuppressiven Medikaments (z.B. Cyclosporin auf Tacrolimus) behandelt werden.

### **3.4 Laborchemische Spiegelbestimmung von Cyclosporin und Tacrolimus**

Zur Spiegelbestimmung wird venöses EDTA-Blut verwendet, welches unmittelbar vor Gabe der nächsten Dosis und nüchtern abgenommen werden sollte.

Die Spiegelbestimmung für die Dosierung von Cyclosporin erfolgt anhand der monospezifischen Syva EMIT® Methode (enzyme multiplied immunoassay technique, Syva Co., Darmstadt) bei der nur die aktive Muttersubstanz bestimmt wird. EMIT ist der sog. »homogene« EIA (Enzym-Immunoassay), in dem das Testreagens ein Enzym-Antigen-Antikörper-Komplex ist, wobei das Enzym durch die Antikörperbindung inaktiviert ist. Das Antigen (Ag, die zu messende Substanz) des Untersuchungsgutes verdrängt entsprechend seiner Konzentration einen Teil des gebundenen Enzym-Ag vom Antikörper (Ak), wobei das Enzym aktiviert und somit meßbar wird. Die Enzymaktivität ist dabei proportional der Ag-Konzentration der Probe. Eine Trennung von löslicher und Ag-gebundener Phase ist nicht notwendig. Die Spiegelbestimmung von Cyclosporin kann außerdem nach der polyspezifischen FPIA Methode (fluorescent polarization immunoassay methode, AbbotTDx®, Abbot Laboratories, Inc.) erfolgen, bei der die Muttersubstanz zusammen mit mehreren Stoffwechselprodukten, darunter einigen aktiven Metaboliten (< 10 % der Muttersubstanzaktivität) bestimmt wird. Die

Bestimmung dieser biologisch aktiven Metabolite ermöglicht eine genauere Überwachung der Toxizität. Dennoch sollte die polyspezifische FPIA Messung nur in einer kurzen Phase, unmittelbar nach der Transplantation, und/oder bei bekannter Metabolisierungstörung (z.B. bei Leberfunktionsstörung) erfolgen (Schumann et al., 1993; McKenna et al., 1994).

Zu Beginn des klinischen Einsatzes von Tacrolimus wurde eine ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)-Methode, unter Verwendung von monoklonalen Antikörpern, zur pharmakokinetischen Charakterisierung und therapeutischen Spiegelbestimmung entwickelt. Nach einer Modifizierung konnten mit dieser Methode quantitative Vollblut- und Plasmaspiegel ermittelt werden. ELISA ist der »heterogene« EIA (Enzym-Immunoassay). Der spezifische Antikörper (Ak) gegen das Antigen (Ag, die zu messende Substanz) wird an die Wand des Probengefäßes (oder an Polymerkügelchen) chemisch fest gebunden; daran lagert sich das Ag der Probenlösung (z.B. einer Serumprobe) an, und der Probenrest wird abgewaschen; anschließend werden an voll wirksames Enzym gekoppelte Antikörper zugesetzt und binden sich an jedes im Erstschrift fixierte Ag-Molekül (der Rest wird gewaschen). Die Enzymaktivität des über Ak-Ag-Ak (Sandwich-Technik) mit der Röhrchenwand (bzw. dem Polymer) verbundenen Enzyms wird nach Zugabe des entsprechenden Substrates photometrisch gemessen. Der ELISA-Test erwies sich einerseits als verlässlich, war jedoch andererseits sehr arbeits- und zeitintensiv, so daß man oft 24 Stunden für die Testergebnisse benötigte.

Eine automatisierte Weiterentwicklung der ELISA ist MEIA (microparticle enzyme immunoassay). Beim MEIA-Test wird zunächst die Probe mit Micropartikeln in Verbindung gebracht, wobei es zur Entstehung von Immunkomplexen zwischen dem Analysat und den Micropartikeln kommt (Ag-Ak-Reaktion). Diese Immunkomplexe werden nun irreversibel an eine Fiberglasmatrix gebunden und der Rest weg gewaschen. Danach wird ein Konjugat mit Alkylphosphatase-Aktivität hinzu gegeben, welches an die noch ungebundenen Antikörper des Immunkomplexes bindet. Als nächstes wird das Substrat 4-Methylumbelliferyl Phosphat (MUP, nicht fluoreszierend) zur Matrix hinzugefügt. Das Konjugat katalysiert die Hydrolyse von MUP zu 4-Methylumbelliferyl (MU, fluoreszierend). Die MEIA-Optik bestimmt die Entstehungsrate

von fluoreszierendem MU an der Matrix. Diese Rate ist proportional zur Konzentration des Analysates in der Probe.

Die zweite Generation des MEIA-Analysators erreicht im Routinegebrauch eine Sensitivität von 1,5 ng/ml. Die Spiegelbestimmung von Tacrolimus erfolgte in unserem Zentrum nach der MEIA Methode (AbbotTDx®, Firma Abbot Laboratories, Inc) (Alak, 1997).

## **4. Postoperative Standarduntersuchungen**

### **4.1 Diagnose der akuten Abstoßungsreaktion**

#### **4.1.1 Klinische Diagnose der akuten Abstoßungsreaktionen**

Die Differentialdiagnose von akuten Transplantatreaktionen (Abstoßungen) und Atemwegsinfektionen ist in der frühen postoperativen Phase schwierig. Die Leitsymptome Fieber, Tachypnoe, Leukozytose, Hypoxämie und perihiläre/basale Infiltrate können bei beiden Prozessen vorhanden sein (Patterson, Cooper, 1995; Reichart, 1995).

Plötzlich einsetzendes Krankheitsgefühl mit Verschlechterung der Lungenfunktion und mäßiggradigem Fieber (38 °C bis 39 °C) sind klinische Alarmzeichen einer akuten Abstoßungsreaktion. In der Blutgasanalyse findet sich häufig zuerst eine Partialinsuffizienz mit Hypoxämie. In der Spirometrie sind ein Abfall der Vitalkapazität und der Einsekunden-Kapazität (FEV<sub>1</sub>) um zehn Prozent, bezogen auf den individuellen postoperativen Normalwert, als signifikante Befunde zu werten. Innerhalb von wenigen Stunden kann sich im Verlauf einer akuten Abstoßungsreaktion eine beatmungspflichtige pulmonale Insuffizienz entwickeln. Das Thorax-Röntgenbild zeigt eine zu Beginn regionale, häufig perihiläre, interstitielle Zeichnungsvermehrung der transplantierten Lunge. Wichtig ist die Beurteilung im Vergleich zu Voraufnahmen. Die ersten radiologischen Zeichen finden sich häufig ein bis zwei Tage vor der manifesten klinischen Symptomatik.

Als differentialdiagnostische Kriterien, um zwischen akuten Abstoßungsreaktionen und Infektionen zu unterscheiden, werden das zytoimmunologische Monitoring (ZIM),

die Messung der forcierten Vitalkapazität und die Lungenbiopsie herangezogen. Die Überwachung von Abstoßungsreaktion in den ersten drei Wochen nach der Transplantation beinhaltet tägliche Röntgenaufnahmen des Thorax, tägliches zytoimmunologisches Monitoring und, wenn es der respiratorischen Status des Patienten ermöglicht, wöchentliche Lungenfunktionstests. Es werden regelmäßige Blutgasanalysen durchgeführt.

Im zytoimmunologischen Monitoring wird das mononukleäre Konzentrat des peripheren Blutes auf Lymphoblasten und aktivierte Lymphozyten, sowie Vorstufen der weißen Reihe untersucht und ein Aktivierungsindex errechnet. Von der Zahl der Lymphoblasten bzw. der stabkernigen Granulozyten können Rückschlüsse auf das Vorhandensein einer Abstoßungsreaktion bzw. einer Infektion gezogen werden (Reichart, 1995; Reichenspurner et al., 1984).

Der Verdacht auf eine akute Abstoßungsreaktion wurde aufgrund der oben genannten klinischen Befunde gestellt. Lagen die Zeichen akuten Abstoßungsreaktion vor, so wurde wenn möglich eine transbronchiale Biopsie (TBB) und eine histologische Analyse durchgeführt, um den Verdacht zu bestätigen.

Im Rahmen der Studie wurde eine akute Abstoßungsreaktion dann als solche gewertet, wenn eine histologische Bestätigung für eine akute Abstoßungsreaktion oder ein Ansprechen auf die immunsuppressive Stoßtherapie vorlag.

#### **4.1.2 Zytoimmunologisches Monitoring (ZIM)**

Das zytoimmunologische Monitoring von peripheren Lymphozyten ist eine wertvolle nicht-invasive Methode zur frühzeitigen Diagnose von akuten Transplantatreaktionen. Diese Methode kombiniert die Quantifizierung von aktivierten Lymphozyten und Immunoblasten mit der Immunophenotypisierung des peripheren Blutes zur Differentialdiagnose zwischen akuter Abstoßung und Infektion.

Für Kalkulationszwecke werden Leukozyten pro Mikroliter gezählt und differenziert. Dabei werden etwa 0,5 bis 1 ml heparinisertes Blut auf einen Ficoll-Isopaque

Gradienten (0,5 ml; spezifische Dichte 1,077 g/ml; Firma Seromed, Biochrom KG) gegeben und 2 min bei 8000 U/min zentrifugiert (Eppendorf® Centrifuge 5415 C). Das dabei entstandene mononukleäre Konzentrat wird isoliert, zweimal mit gepuffertem Kochsalz (PBS) gewaschen und auf einen Objektträger zytozentrifugiert (Cytospin®, Firma Shandon).

Danach werden die Zellen des mononukleären Infiltrates nach Pappenheim gefärbt (5 min May-Grünwald-Lösung, gefolgt von 2 min Aqua dest., gefolgt von 15 min Giemsa-Lösung, bestehend aus 20 ml filtr. Giemsa-Lösung und 250 ml Aqua dest., schließlich 2 min Aqua dest.) und differenziert. Unter dem Mikroskop werden einhundert Zellen ausgezählt. Die Lymphozyten, die den Hauptanteil des mononukleären Konzentrates bilden, werden als normale Lymphozyten, voll entwickelte Lymphoblasten oder sogenannte „Prälymphoblasten“ klassifiziert. Prälymphoblasten unterscheiden sich unverwechselbar von normalen Lymphozyten aufgrund ihrer Zellgröße, zytoplasmatischen Basophilie und nukleären Struktur. Sie haben noch nicht die Größe von voll differenzierten Blasten erreicht.

Die deutlichsten Zeichen einer akuten Abstoßungsreaktion sind Lymphoblasten, aktivierte Lymphozyten und Zellen der Monozyten-Makrophagen-Linie. Diese Zellen indizieren akute inflammatorische Ereignisse im Transplantat, wo sie während einer akuten Abstoßung akkumulieren. Die Intensität der Inflammation die mit der akuten Abstoßung verbunden ist, kann anhand eines Aktivierungsindexes ausgedrückt werden. Bei schweren Abstoßungen findet man ein aktiviertes Monozytenkonzentrat mit mehr als 7 % Blastenzellen und mehr als 20 % aktivierten Lymphoblasten. Das Verhältnis der Zellen mit dem Phenotyp CD4/CD8 ist etwa 1,5. Die Anzahl der B-Zellen ist unter 15 % (Reichenspurner et al., 1984; Hammer et al., 1989).

#### **4.1.3 Histologische Einteilung der akuten Abstoßungsreaktion**

Die „International Study Group of the International Society for Heart and Lung Transplantation“ hat 1990 einen histologischen Standard zur Einteilung der akuten Abstoßungsreaktion in vier Grade formuliert (Berry et al., 1990).

Die akute Abstoßung wird beurteilt nach dem Ausmaß des perivasalen, bronchiolären, bronchialen und interstitiellen mononukleären Infiltrates. Sie wird in unauffällig (A0), minimal (A1), gering (A2), mäßig/mittelgradig (A3) und schwer (A4) graduiert. Eine zusätzliche Einteilung berücksichtigt, jeweils mit kleinen Buchstaben gekennzeichnet, ob Bronchiolen beteiligt (a) oder nicht beteiligt (b) sind oder ob knorpelhaltige Bronchien betroffen (c) bzw. ob Bronchien nicht miterfasst sind (d).

Tabelle 11 zeigt, die Einteilung der akuten Abstoßungsreaktionen und auf welchen deskriptiven und morphologischen Kriterien sie beruht (Bittmann, Weiss, 1995; Berry et al., 1990).

*Tabelle 11: ISHLT-Einteilung der akuten Abstoßungsreaktionen*

Grad der AR	Histologische Definition
A0:	Es liegt keine nachweisbare Reaktion vor.
A1:	Es sind geringgradige perivasale mononukleäre Infiltrate zu erkennen, die einzelne Blutgefäße, besonders Venolen, manschettenartig umgeben. Diese Veränderungen sind in der schwachen Vergrößerung (Übersicht) noch nicht zu erkennen.
A2:	Bei schwacher Mikroskopvergrößerung sind zahlreiche perivenuläre und häufig auch subendotheliale („Endothelialithis“) Infiltrate vorhanden. Das Infiltrat setzt sich aus großen aktivierten und kleinen Lymphozyten zusammen. Es können auch Makrophagen und eosinophilen Granulozyten vorkommen. Eine Ausbreitung des Infiltrates in die Alveolarsepten liegt nicht vor.
A3:	Man erkennt deutliche perivasale mononukleäre Infiltrate mit potentieller Beteiligung von eosinophilen und neutrophilen Granulozyten, in der Regel mit „Endothelialithis“. Ausdehnung des Zellinfiltrates in das periadventitielle Bindegewebe und in die Alveolarsepten.
A4:	Es sind diffuse perivasale, peribronchioläre und septale Infiltrate mononukleärer Zellen mit Pneumozytennekrosen, hyalinen Membranen, Infiltraten neutrophiler Granulozyten in Alveolen und fokalen Parenchymnekrosen zu erkennen.

## 4.2 Diagnose von Infektionen

Die Definition der Infektionen erfolgte entweder über einen positiven Nachweis des pathogenen Erregers oder über ein Ansprechen auf die antibiotische Therapie. Bei Fieber oder V.a. eine Infektion wurden folgende Laboruntersuchungen durchgeführt: Blutbild mit Differentialblutbild, C-reaktives Protein, mikrobiologische Untersuchungen je nach Material und verdächtigem Erreger. Eine besondere Rolle spielen hierbei die Fiberbronchoskopie mit zusätzlicher bronchio-alveolärer Lavage (BAL), mit Bürstenabstrichen und wenn möglich einer transbrochialen Biopsie (TBB).

Der dauernden Kontakt mit der Atemluft, die verschlechterte mukoziliare Clearance aufgrund der Denervierung der Lunge, die veränderte bronchiale Blutzirkulation, der gestörte Lymphabfluß und subklinische Infektionen der Spenderlunge sind Gründe für das hohe Infektionsrisiko bei Lungentransplantationen – das höchste Infektionsrisiko unter allen transplantierten Organen überhaupt (Zenati et al., 1990).

Im Rahmen des mikrobiellen Monitorings wurden täglich Kulturen des endotrachealen Sekretes sowie aller Thoraxdrainagen durchgeführt. Außerdem wurden wöchentlich Urinproben auf bakterielle Erreger untersucht. Zweiwöchentlich wurde eine Serologie auf Legionellen und atypische Erreger vorgenommen.

Im Rahmen einer sog. pre-emptive Therapie mit Ganciclovir wurden CMV-Risikopatienten hinsichtlich einer Antigenämie untersucht und bei Anzeichen einer Antigenämie mit Ganciclovir behandelt. Zunächst wurde dreimal wöchentlich und später alle 7 bis 14 Tage ein Cytomegalievirus (CMV)- Clonab® Test durchgeführt. Der CMV-Clonab® Test besteht aus einer Kombination der monoklonalen Antikörper CMV-C10 und CMV-C11. Bei diesen Antikörpern handelt es sich um Immunglobuline der Klasse IgG1, welche von Mäusen gewonnen werden. Das Verfahren ermöglicht den Nachweis des Cytomegalievirus bereits in frühen sowie auch in späteren Stadien der Infektion: C-10 und C-11 reagieren mit unterschiedlichen Antigenen, die von CMV-infizierten Zellen exprimiert werden. Die Antigene wurden als „immediate early antigenes“ charakterisiert. Zusätzlich reagiert CMV-Clonab® mit dem „early antigen“ und dem „late antigen“, die von CMV-Infizierten Zellen auf der Zelloberfläche exprimiert werden. Es besteht keine Kreuzreaktivität mit Zellen, die mit anderen Viren der Herpes-Gruppe infiziert sind. Außerdem weist Clonab® CMV keine Reaktion mit

normalem menschlichem Gewebe und Blutzellen auf. Die Diagnostik hinsichtlich Cytomegalievirus ist komplex, da Nachweis des Virus nicht gleichbedeutend ist mit (durch den Virus bedingter) Pneumonitis. Von einer Pneumonitis kann dann ausgegangen werden, wenn typische Einschlusskörper (sog. Eulenaugenzellen) in einer transbronchialen Biopsie oder bronchoalveolären Lavagezellen nachweisbar sind.

Mehrere aufeinander folgende positive mikrobielle Kulturen (z.B. Wundabstrich, Urinkultur) des gleichen Erregers und gleichen Körperortes wurden, im Rahmen der Studie, als Teil derselben Infektionsepisode betrachtet. Infektionen an unterschiedlichen Körperorten mit verschiedenen Erregern wurden nicht als eine einzige Infektion, sondern als gesonderte, getrennte Infektionen angesehen, auch wenn sie sich zeitgleich abspielten.

#### **4.3 Diagnose des Bronchiolitis obliterans Syndroms (BOS) und Bronchiolitis obliterans (OB)**

Man unterscheidet die klinische Diagnose des Bronchiolitis obliterans Syndroms (BOS) von dem in der Pathologie gebräuchlichen Term Bronchiolitis obliterans (OB), der erst histopathologisch nachgewiesen werden muß. Der Term BOS beschreibt eine Verschlechterung der Organfunktion nach Herz-Lungen- und isolierter Lungentransplantation, bei deren Auftreten keine Infektion, akute Abstoßung oder Komplikationen der Anastomose vorliegen sollte.

Eine histologische Bestätigung für den Term BOS ist nicht erforderlich. Die klinischen Symptome des BOS sind trockener Husten, zunehmende Atembeschwerden und Erschöpfung. Der Begriff OB ist für eine histologisch bestätigte Diagnose reserviert. Diese histologische Diagnose ist anatomisch auf die membranösen und respiratorischen Bronchioli beschränkt und erfordert die Anwesenheit von eosinophilen fibrinösen Vernarbungen der Wand mit partiellem oder völligem Verschuß des Lumens dieser kleinen Atemwege (Reichenspurner et al., 1995).

### **4.3.1 Klinische Symptome und Befunde**

Die frühen Symptome des Bronchiolitis obliterans Syndromes (BOS) sind trockener Husten und zunehmende Atemnot. Häufig kommt es zu Superinfektionen mit bakteriellen oder fungalen Keimen, wie Pseudomonaden, atypischen Mykobakterien oder Aspergillen.

In der frühen Phase des BOS können bei der körperlichen Untersuchung nur wenige klinischen Zeichen entdeckt werden. Die expiratorische Phase des Atemgeräusches ist verlängert, mit expiratorischen Rhonchi in den fortgeschritteneren Fällen.

Die spätinspiratorischen hohen Atemgeräusche („inspiratorisches Quietschen“) sind ein typisches klinisches Zeichen des BOS und werden auf eine verspätete Öffnung der kleinen Atemwege als Folge von angesammeltem Schleim und verminderter Elastizität der bronchiolären Wände zurückgeführt.

Die Obstruktion der Atemwege spricht nur selten auf eine bronchodilative Therapie an. Im fortgeschrittenem Stadium entwickeln die Patienten Zeichen der globalen respiratorischen Insuffizienz. Das Mißverhältnis von Ventilation und Perfusion bedingt eine Hypoxämie als späte klinische Manifestation des BOS und eine Hyperkapnie als präterminalen Befund (Reichenspurner et al., 1995).

### **4.3.2 Nicht-invasive diagnostische Verfahren**

Im Thorax-Röntgenbild sind die Veränderungen von Patienten mit BOS nach Lungentransplantation nicht spezifisch und können nicht von anderen infektiösen und nicht-infektiösen Prozeßen unterschieden werden. Oft kann das konventionelle Röntgenbild normal sein. Das Vorhandensein einer zentralen Bronchiektasie kann ein typischer Befund bei fortgeschrittenen Fällen des BOS sein.

In der hochauflösenden Computertomographie (HRCT, high resolution computer tomography) werden klare Abnormitäten in Form von Bronchiodilatation, Bronchiektasien, Atelektasen und herdförmige Verdichtungen sichtbar, noch bevor diese auf dem Thorax-Röntgenbild oder der herkömmlichen Computertomographie auffällig werden. Es konnte ein relativ spezifisches Mosaikmuster identifiziert werden.

Dieser am besten auf während der Expiration aufgenommenen Schichten sichtbare Befund – reflektiert Unterschiede im "air trapping" in verschiedenen Lungenarealen abhängig vom Grad der Obstruktion in dem betreffenden Abschnitt. Als Folge davon sieht man ein "Mosaik" unterschiedlich kontrastierter Lungenabschnitte.

Zusätzlich kann eine progressive Abnahme der Ventilation in der Ventilations/Perfusions-Szintigraphie der Lunge beobachtet werden. Dies ist besonders nach Einzel-Lungentransplantationen zu beobachten, bei Patienten die aufgrund von primärem pulmonalem Hypertonus operiert wurden. In diesen Fällen führt das BOS zu einem ausgeprägtem Ventilations/Perfusions-Mißverhältnis.

Bei der Diagnose und der Verlaufsbeurteilung des BOS spielen Lungenfunktionstests eine besonders wichtige Rolle. Lungenfunktionsanalytisch imponiert eine auf Broncholyse nicht bzw. kaum ansprechende obstruktive Ventilationsstörung. Fortgeschrittene Fälle des Bronchiolitis obliterans Syndromes zeigen signifikante Änderungen der forcierten Vitalkapazität (FVC), des forcierten Expirationsvolumens in der 1. Sekunde ( $FEV_1$ ), des forcierten Expirationsvolumens zwischen 25 % und 75 % des FVC ( $FEF_{25\%-75\%}$ ), dem Verhältnis des forcierten Expirationsvolumens bei 50 % der Vitalkapazität und des FCV ( $FEF_{50\%}/FCV$ ), und der arteriellen Sauerstoffspannung verglichen mit Patienten ohne BOS. Eine persistierende Abnahme des  $FEF_{50\%}/FCV$  und des  $FEF_{25-75}$ , ohne signifikante Änderung anderer Lungenparameter, gilt als Zeichen einer bevorstehenden Erkrankung der Atemwege. Die Flußvolumenkonturen bei maximaler Inspiration und Expiration (maximum inspiratory and expiratory flow-volume, MIEFV) wurden als sensitivster Index zur Differentialdiagnose des OB von Stenosen der Bronchialanastomose beschrieben. Die beiden Krankheitsbilder können durch unterschiedliche Plateaus in der biphasischen MIEFV-Kontur voneinander unterschieden werden. Die Stenosen zeigen dabei biphasische inspiratorische und expiratorische Reduktionen der terminalen Flußrate (d.h. bei forciertem Expirationsvolumen bei 75 % der Vitalkapazität,  $FEF_{75\%}$ ). Die OB präsentiert sich mit disproportionierten reduzierten mittel-expiratorischen Flußraten (d.h. bei forciertem Expirationsvolumen bei 50 % der Vitalkapazität,  $FEF_{50\%}$ ) und normalen inspiratorischen Flußvolumenkonturen (Ross et al., 1994).

Das FEV<sub>1</sub> gilt als wichtigster und am häufigsten gebrauchter Indikator für Dysfunktionen der transplantierten Lunge. Die nutzt ISHLT das FEV<sub>1</sub> zur Verlaufskontrolle der Lungenfunktion. Weil Bronchiolitis obliterans inhomogen über die ganze transplantierte Lunge verteilt ist und dadurch die histologische Sicherung erschwert ist, wurde anhand der Abnahme des forcierten expiratorischen Volumens in einer Sekunde eine klinische Klassifikation eingeführt. Dabei wird der aktuelle FEV<sub>1</sub>-Wert mit einen postoperativen Bestwert (der dem Mittelwert aus zwei konsekutiven FEV<sub>1</sub>-Bestwerten entspricht) verglichen. Um eine Begriffsverwirrung zu vermeiden wurde der Begriff des „Bronchiolitis obliterans Syndroms“ (BOS) für die Erkrankung geschaffen, wobei dieser nicht obligat vom histologischen Befund abhängt. Das BOS wurde 1993 zunächst in vier Grade eingeteilt (Cooper et al., 1993). Später wurde es um den Grad BOS 0-p ("potentiell") erweitert, um schon auf erste Veränderungen reagieren und eine möglichst frühzeitige weitergehende Diagnostik einleiten zu können (Estenne et al., 2002). Das erweiterte Staging-System des Bronchiolitis obliterans Syndroms der ISHLT ist in Tabelle 12 dargestellt.

*Tabelle 12: Erweiterte ISHLT-Einteilung der BOS-Stadien Anhand der Abnahme des FEV<sub>1</sub> und FEV<sub>25/75</sub> (Estenne et al., 2002)*

BOS-Grad	FEV1
<i>BOS 0</i> Keine signifikante Abnormalität	81-100 % a. Ohne pathologischen Nachweis für Bronchiolitis obliterans (OB) b. Mit pathologischem Nachweis für OB
<i>BOS 0-p</i> potentiell	81-90 % und/oder FEV <sub>25/75</sub> ≤ 75% a. Ohne pathologischen Nachweis für Bronchiolitis obliterans (OB) b. Mit pathologischem Nachweis für OB
<i>BOS 1</i> Mildes BOS	66-80 % a. Ohne pathologischen Nachweis für OB b. Mit pathologischem Nachweis für OB
<i>BOS 2</i> Mittleres BOS	51-65 % a. Ohne pathologischen Nachweis für OB b. Mit pathologischem Nachweis für OB
<i>BOS 3</i> Schweres BOS	<50 % a. Ohne pathologischen Nachweis für OB b. Mit pathologischem Nachweis für OB

Das Einteilungssystem soll den gegenwärtigen Zustand eines Patienten widerspiegeln. Dadurch kann ein Patient von BOS 2 zu einem späteren Zeitpunkt auf BOS 0 oder BOS 1 zurückkehren wenn sich sein FEV1 verbessert. Wenn jedoch die pathologische Diagnose einer obliterativen Bronchiolitis in der Histologie gestellt wurde, wird der Patient immer in der „b“ Subkategorie bleiben, unabhängig von der klinischen Einteilung (Cooper et al., 1993).

#### **4.3.3 Invasive diagnostische Verfahren**

Für die Gewinnung von Biopsiematerial werden die offene Lungenbiopsie und die transbronchiale Biopsie (TBB) mit flexiblen Bronchioskopen verwendet. Die Sensitivität der TBB liegt zwischen 17 % und 87 % und variiert je nach Zentrum und dem Zeitpunkt der Biopsie im Verhältnis zum Beginn der klinischen Symptome. Die Sensitivität ist bei früher klinischer Diagnose des BOS erhöht. Die Sensitivität und Spezifität der TBB ist, besonders in Verbindung mit der bronchioalveolären Lavage (BAL), für (subklinisch verlaufende) akute Abstoßungsreaktionen und Infektionen hoch. Dies gilt aber nicht in gleichem Maße für die Diagnose der OB, weil es aufgrund des lokalen, herdförmigen Prozesses leicht zu inadäquaten Probenentnahmen kommt, d.h. die Biopsie wird an der falschen Stelle durchgeführt. Dies führt folglich zu einer hohen Zahl von falsch-negativen Diagnosen (Higenbottam et al., 1988; Kramer et al., 1993). Wegen dieser Herdförmigkeit der morphologischen Veränderungen bei Bronchiolitis obliterans wird es empfohlen, mindestens fünf Biopsien zu entnehmen, um eine korrekte histologische Bestätigung zu ermöglichen. In Fällen unklarer Diagnose kann eine offene Lungenbiopsie (OLB) notwendig werden (Reichenspurner et al., 1995).

Nach der Entnahme wird das Gewebe in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Es werden routinemäßig mehrere Schnittstufen angefertigt; anschließend mit Hämatoxylin-Eosin und einer Bindegewebsfärbung, z.B. Elastika-van Gieson, Trichromfärbung, PAS (Oxidation mit Perjodsäure und Schiffsches Reagenz) und Silberimprägnation nach Bielschowsky-Pap (mit ammoniakalischer AgNi-Lösung) gefärbt.

Die Bronchiolitis entsteht an den terminalen und respiratorischen Bronchiolen mit einer submukösen Bindegewebsvermehrung, die zu einer exzentrischen oder konzentrischen Lumeneinengung der Bronchiolen führen kann, bis hin zu deren

kompletter Obliteration. Sie wird mit C1 graduiert, wenn eine subtotale Lumeneinengung der Bronchiolen durch Bindegewebe vorliegt und mit C2, wenn das Lumen komplett obliteriert ist. Außerdem wird angegeben, ob zusätzlich zu der Fibrose ein intra- oder peribronchiales mononukleäres Infiltrat vorliegt (a) oder ob dieses Infiltrat fehlt (b), also keine aktiven Entzündungszeichen vorhanden sind.

Die Bronchiolitis obliterans als chronische Abstoßung zu diagnostizieren, ist nur möglich im Zusammenhang mit dem klinischen Verlauf. Sie kann ebenso Folge z.B. stattgefundener Infektionen oder eines diffusen Lungenschadens sein. Gleichzeitig ist jedoch auch umgekehrt zu beachten, dass für Patienten mit einer Bronchiolitis obliterans ein hohes Risiko für Atemwegsinfektionen aufgrund der gestörten mukoziliaren Clearance besteht (Bittmann, Weiss, 1995).

*Tabelle 13: Histologische Einteilung der Bronchiolitis obliterans*

Grad	Beschreibung der Histologie
C1 Subtotale Lumeneinengung	a. Intra- peribronchiales Infiltrat b. Kein Infiltrat
C2 Kompletter Verschuß	a. Intra- peribronchiales Infiltrat b. Kein Infiltrat

## 5. Statistische Grundlagen und Berechnung der Überlebensraten

Für die Erstellung von Tabellen und Diagramme wurden die Programme Microsoft® Excel 97 sowie SPSS® 9.0 verwendet. Die Erstellung von Kaplan-Meier-Kurven, sowie die Statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Programm SPSS® 9.0 (SPSS Inc.).

Das Überleben nach Transplantation sowie Freiheit von akuter Abstoßungsreaktion und Freiheit von zweiter akuter Abstoßungsreaktion wurden nach Kaplan-Meier ermittelt und mit dem log-rank-Test statistisch verglichen. Zur Beurteilung der Strukturgleichheit der Therapiegruppen erfolgten für stetige Merkmale deskriptive Whitney-Mann-U-Tests, für dichotome Merkmale Fischer- $\chi^2$ -Tests. Die Gruppenmittelwerte wurden mit dem

Student t-Test verglichen. Alle Werte wurden in Mittelwert $\pm$ Standardabweichung (MW $\pm$ SD) angegeben.

Die follow-up-Zeit wurde bis zur letzten Untersuchung, Tod, Retransplantation oder Wechsel der primären Immunsuppression berechnet und war bei allen Patienten vollständig. Die Kalkulation des Patientenüberlebens beinhaltete auch Retransplantation. Bei Patienten, deren primäre Immunsuppression (Cyclosporin oder Tacrolimus), vom einen zum anderen Medikament, gewechselt werden musste („switch“), wurde folgendermaßen vorgegangen: Überlebten die Patienten länger als einen Monat nach Konversion der Immunsuppression wurden sie von der Berechnung der Überlebensraten ausgeschlossen (n=4). Patienten, die nach der Konversion weniger als einen Monat überlebt hätten wären in der alten Gruppe belassen worden, welches aber in keinem Fall vorkam (n=0).

## E Ergebnisse

### 1. Überlebensraten und Todesursachen

#### 1.1 Perioperativ

##### 1.1.1 Operation

Intraoperativ verstarb kein Patient. Die Operationszeiten in der Cyclosporin-Gruppe lagen für unilaterale Transplantationen zwischen 180 und 245 Minuten und für bilaterale Transplantationen zwischen 300 und 480 Minuten. Der Mittelwert ( $\pm$ Standardabweichung) für alle Transplantationen in dieser Gruppe betrug  $301\pm 130$  Minuten. Vergleichsweise lagen die Operationszeiten ( $\pm$ Standardabweichung) in der Tacrolimus-Gruppe für Einzel-Lungentransplantationen zwischen 165 und 510 Minuten und für Doppel-Lungentransplantationen zwischen 375 und 400 Minuten. Im Mittel betrug in dieser Gruppe die durchschnittliche Operationszeit für alle Transplantationen  $347\pm 125$  Minuten. Tabelle 14 zeigt einen Vergleich der beiden Patientengruppen in Bezug auf perioperative Parameter sowie auf wichtige Schritte in der Rehabilitation.

*Tabelle 14: Perioperative Parameter und Dauer des Klinikaufenthaltes, Zahlen in Klammern= Min. und Max.*

	<b>Cyclosporin</b>	<b>Tacrolimus</b>	P-Wert der Prüfgröße
Ischämiezeit (min)	$349\pm 100$ (180-465)	$321\pm 94$ (159-426)	1,0 n.s.
Operationszeit (min)	$301\pm 130$ (180-480)	$347\pm 125$ (165-510)	0,6 n.s.
Beatmungszeit (Tage)	$33\pm 42$ (2-102)	$17\pm 22$ (1-65)	0,439 n.s.
Zeit der Intensivbehandlung (Tage)	$40\pm 44$ (7-116)	$17\pm 21$ (1-65)	0,148 n.s.
Entlassungszeit (Tage)	$67\pm 50$	$29\pm 15$	0,246 n.s.

	(18-133)	(21-53)	
Anschlußheilbehandlung (AHB)	41±25	24±20	0,751 n.s.
(Tage)	(21-86)	(22-57)	

### 1.1.2 Reperfusionsoedem

Bezüglich der Komplikation des Reperfusionsoedems wurden nur die Daten der münchener Patienten ausgewertet. Fünf Patienten der Cyclosporin-Gruppe und 6 aus der Tacrolimus-Gruppe entwickelten postoperativ ein Reperfusionsoedem. Das Reperfusionsoedem bildete sich in allen Fällen unter der Therapie zurück. Im wesentlichen entsprach die Behandlung weitgehend der Behandlung eines "adult respiratory distress syndrome" (ARDS) mit optimierter Beatmung und Negativbilanz. In jeweils zwei Fällen wurden erhöhte pulmonalarterielle Drücke mit inhalativer Gabe von NO therapiert und konnten erfolgreich auf Normwerte gesenkt werden. Die Ischämie- und Operationzeiten der Patienten, die ein Reperfusionsoedem entwickelten, lagen in beiden Gruppen nicht-signifikant über der Grundgesamtheit. Die Ischämiezeit ( $\pm$ Standardabweichung) dieser Patienten betrug in der Tacrolimus- bzw. Cyclosporin-Gruppe  $338\pm 102$  resp.  $393\pm 116$  Minuten. Die Operationszeit ( $\pm$ Standardabweichung) betrug für diese Patienten in der Tacrolimus-Gruppe  $373\pm 117$  Minuten und in der Cyclosporin-Gruppe  $336\pm 124$  Minuten.

### 1.2 Überleben nach 30 Tagen

In der Cyclosporin-Gruppe verstarb ein Patient am 16. Tag p.o. an einer bakteriellen Sepsis (gramnegativ). Damit betrug die Mortalität nach 30 Tagen in dieser Gruppe 4%. In der Tacrolimus-Gruppe verstarb in den ersten 30 Tagen post transplantationem kein Patient. Damit betrug die Überlebensrate nach 30 Tagen in der Tacrolimus-Gruppe 100 %.

### **1.3 Überleben nach 3 Monaten**

Die Mortalität betrug nach 90 Tagen in der Tacrolimus-Gruppe 8 % (n=2, 75.d; Sepsis mit gramnegativen Erregern; 82.d bakterielle Sepsis) und folglich die Überlebensrate 92 %. In der Cyclosporin-Gruppe verstarb in diesem Zeitraum kein Patient. Damit ergab sich eine Überlebensrate von weiterhin 96 % für diese Gruppe.

### **1.4 Überleben nach 6 Monaten**

Zwischen 3 und 6 Monaten nach der Transplantation verstarben 6 Patienten - jeweils drei Patienten aus beiden Gruppen. Die Patienten aus der Tacrolimus-Gruppe verstarben nach 129 Tagen (Infektion mit Methizillin-resistentem Staphylokokkus aureus), nach 142 Tagen (CMV-Pneumonie) und nach 175 Tagen (intracerebrale Blutung). Die Überlebensrate betrug damit nach 6 Monaten in dieser Gruppe 80 %.

Die Patienten aus der Cyclosporin-Gruppe verstarben nach 96 Tagen (bakterielle Pneumonie), nach 110 Tagen (Multiorganversagen nach Bronchiolitis obliterans Syndrom) und nach 158 Tagen (pulm. Aspergillensepsis). Die Überlebensrate betrug nach 6 Monaten für die Cyclosporin-Gruppe 83 %.

### **1.5 Überleben nach 12 Monaten**

In diesem Zeitraum verstarben vier Patienten – drei aus der Tacrolimus-Gruppe und einer aus der Cyclosporin-Gruppe. Die Patienten der Tacrolimus-Gruppe verstarben nach 290 Tagen (pulm. Aspergillensepsis), nach 296 Tagen (TBC-Infektion) und nach 337 Tagen (fulminante pulm. Aspergillose). Die Überlebensrate nach einem Jahr für die Tacrolimus-Gruppe war 69 %.

Ein Patient aus der Cyclosporin-Gruppe verstarb nach 345 Tagen an einer schweren akuten Abstoßungsreaktion. Die Überlebensrate nach einem Jahr in der Cyclosporin-Gruppe betrug 79 %.

Tabelle 15 zeigt die Überlebenszeit und Todesursachen der Patienten beider Gruppen, die in München und Wien transplantiert wurden. Diagramm 1 zeigt die aktuarische Überlebenskurve nach Lungentransplantation.

*Tabelle 15 : Überlebenszeit und Todesursachen der Gruppen in München und Wien, MOV= Multiorganversagen, BOS= Bronchiolitis obliterans Syndrom, MRSA= Methicillin-resistenter Staphylokokkus aureus, CMV= Cytomegalievirus, ICB= intracerebrale Blutung*

	<b>Cyclosporin</b>	<b>Tacrolimus</b>
Patienten (n)	24	26
Verstorbene Patienten (n)	5	8
Tage nach OP	Pat A.T.: 16 Pat A.S.: 96 Pat A.L.: 110 Pat M.S.: 158 Pat H.K.: 345	Pat A.M.: 75 Pat K.B.: 82 Pat B.S.: 129 Pat P.R.: 142 Pat A.F.: 175 Pat A.M.: 290 Pat W.D.: 296 Pat M.C.: 337
Todesursache	Pat A.T.: bakt. Sepsis Pat A.S.: bakt. Pneumonie Pat A.L.: MOV nach BOS Pat M.S.: Aspergillensepsis Pat H.K.: Akute Abstoßung	Pat A.M.: bakt. Sepsis Pat K.B.: bakt. Sepsis Pat B.S.: bakt. Sepsis (MRSA) Pat P.R.: CMV-Pneumonie Pat A.F.: ICB Pat A.M.: Aspergillensepsis Pat W.D.: TBC-Infekt. Pat M.C.: fulm. Aspergillose
Prozentuales Einjahres-Überleben	79%	69%

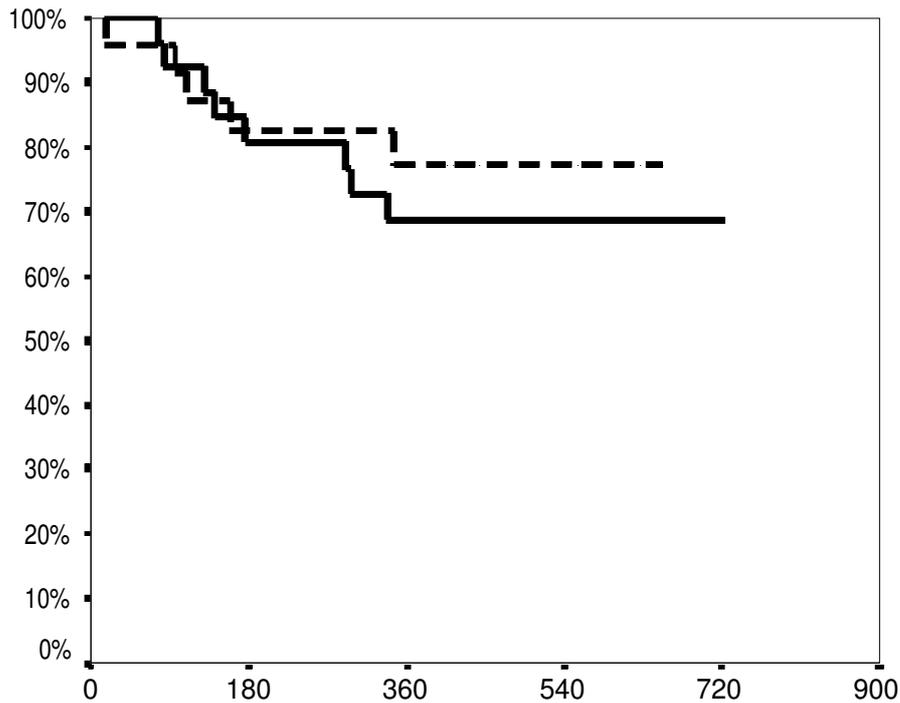


Diagramm 1: Aktuarische Überlebenskurve der Patienten in Wien und München, gestrichelte Linie: Cyclosporin, durchgezogene Linie: Tacrolimus, Ordinate: Überlebende Patienten (in Prozent), Abszisse: Zeit (Tage), log rank-Test:  $p=0,56$

## 2. Retransplantation

Im Beobachtungszeitraum kam es zu zwei Retransplantationen, nach 22 und 50 Tagen, die beide bei Patienten der Cyclosporin-Gruppe durchgeführt wurden.

Nach einer erfolgreichen linkseitigen Einzel-Lungentransplantation kam es, beim ersten Patienten, in den ersten postoperativen Tagen bei einem anhaltenden Sauerstoffbedarf von 80 % zur Abzeichnung von starken Ödemen im Thorax-Röntgenbild und einer Aktivierung im zytoimmunologischen Monitoring (ZIM). Am fünften postoperativen Tag wurde in der transbronchialen Biopsie (TBB) der Verdacht auf ein Transplantatversagen bei Konservierungsschaden der Spenderlunge gestellt. Eine Stoßtherapie mit 3x500mg Urbason und Gabe von antithymozyten Globulin (RATG) brachten keine wesentliche Besserung der Symptome.

Die Retransplantation (sequentielle bilaterale Lungentransplantation) erfolgte 22 Tage nach der Ersttransplantation. Nach einem verlängerten postoperativen Verlauf und intensivmedizinischer Behandlung konnte der Patient 86 Tage nach der Retransplantation extubiert werden (Aufenthalt auf Intensivstation insgesamt 95 Tage) und wurde im weiteren Verlauf aufgrund einer „critical-illness“-Polyneuropathie auf einer Station für physikalische Medizin weiterbehandelt. In dieser Zeit kam es zu einem Harnwegsinfekt der erfolgreich antibiotisch therapiert werden konnte. Die Entlassung erfolgte nach 133 Tagen. Die Anschlußheilbehandlung dauerte 86 Tage. Die follow-up-Zeit beträgt bislang 516 Tage.

Der zweite Patient entwickelte eine frühe unspezifische Transplantatabstoßung. Aufgrund von steroidresistenten akuten Abstoßungsepisoden wurde der Patient zur Retransplantation angemeldet. Diese erfolgte 50 Tage post operationem und war zunächst erfolgreich. Der Patient verstarb jedoch 6 Wochen später an einer bakteriellen Pneumonie.

### **3. Akute Abstoßungsreaktionen**

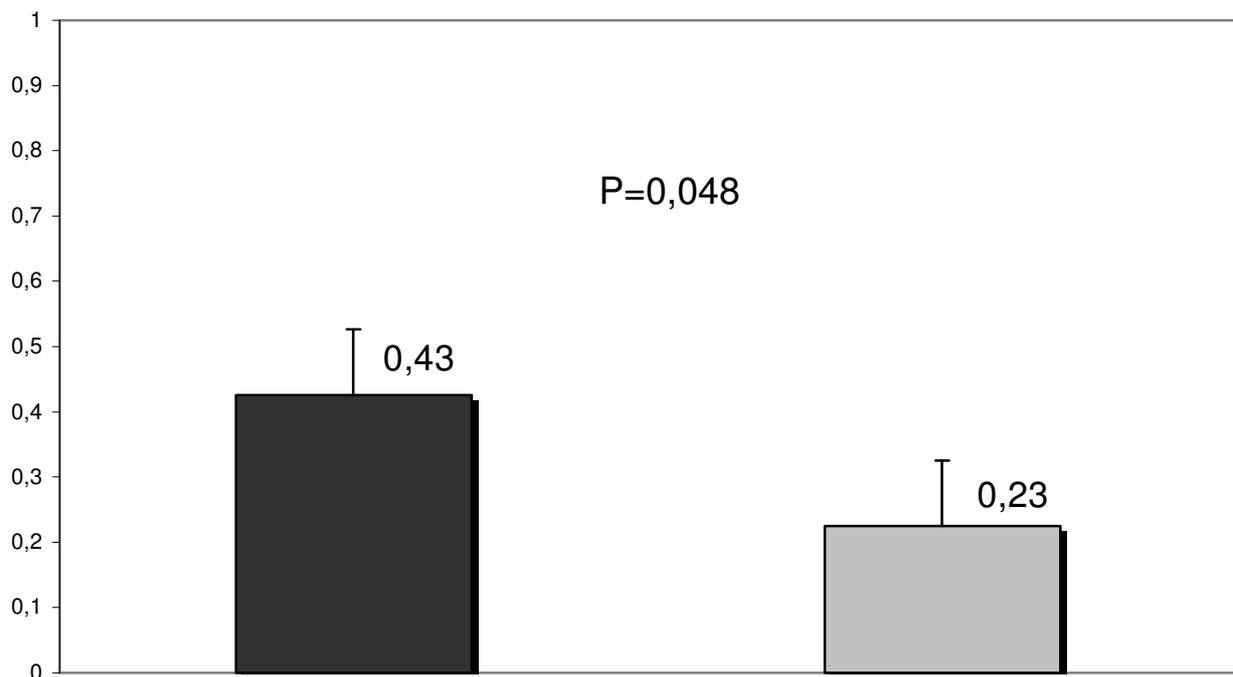
Im Beobachtungszeitraum von September 1997 bis Ende August 1999 kam es zu 23 akuten Abstoßungsreaktionen bei 16 Patienten in der Cyclosporin-Gruppe. Das ergibt einen Wert ( $\pm$ Standardabweichung) von  $0,43 \pm 0,54$  pro 100 Patiententage. Von den 23 akuten Abstoßungsreaktionen wurden 12 klinisch diagnostiziert. Die übrigen 11 akuten Abstoßungsreaktionen wurden histologisch gesichert. Genauer wurden 11 histologische Befunde bei 9 Patienten erhoben (zweimal Abstoßungsgrad A1, siebenmal Grad A2 und zweimal Grad A3). Im selben Zeitraum kam es in der Tacrolimus-Gruppe zu 15 akuten Abstoßungsreaktionen bei 12 Patienten. Das ergibt eine Inzidenz von akuten Abstoßungsreaktionen ( $\pm$ Standardabweichung) von  $0,23 \pm 0,3$  pro 100 Patiententage. Acht Befunde wurden klinisch erhoben. Außerdem konnten in 7 Fällen bei 6 Patienten akute Abstoßungsreaktionen histologisch gesichert werden (zweimal A1, fünfmal Grad A2).

Wie Diagramm 2 verdeutlicht, war die Inzidenz von behandelten akuten Abstoßungsreaktionen, bezogen auf 100 Patiententage, in der Cyclosporin-Gruppe

signifikant höher als in der Tacrolimus-Gruppe ( $0,43 \pm 0,54$  resp.  $0,23 \pm 0,3$ ;  $p=0,048$ ; Diagramm 2).

Die Freiheit von akuter Abstoßung nach 6 und 12 Monaten war etwas höher in der Tacrolimus-Gruppe (57,7% resp. 50% in der Tacrolimus-Gruppe gegenüber 45,8% resp. 33,3% in der Cyclosporin-Gruppe;  $p=n.s.$ ; Diagramm 3). Der Vergleich der Freiheit von zweiter Abstoßung nach 6 Monaten und einem Jahr ergab keinen Unterschied in den beiden Gruppen (96,2% und 84,6% unter Tacrolimus gegenüber 87,5% und 83,3% unter Cyclosporin;  $p=n.s.$ ; Diagramm 4).

Je ein Patient aus den beiden Gruppen entwickelte eine dritte akute Abstoßungsepisode. Damit ergibt sich nach für Tacrolimus bzw. Cyclosporin 12 Monaten eine Freiheit von dritter akuter Abstoßungsreaktion von 96,1% bzw. 95,8% ( $p=n.s.$ ).



*Diagramm 2: Inzidenz von akuten Abstoßungsreaktionen der Patienten in Wien und München (Mittelwert pro 100 Patiententage), dunkler Balken Cyclosporin, heller Balken Tacrolimus*

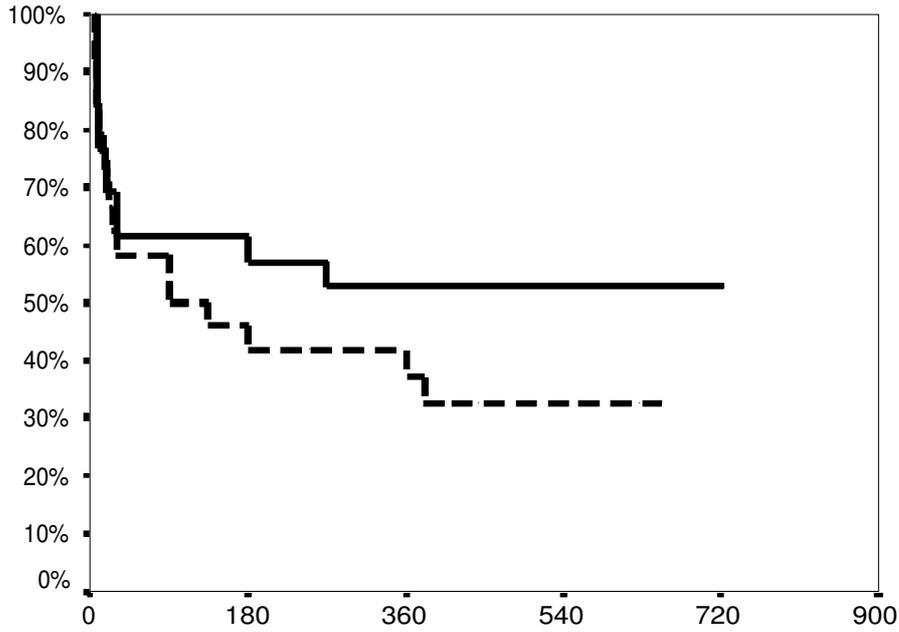


Diagramm 3: Freiheit von akuter Abstoßungsreaktion, gestrichelte Linie: Cyclosporin (n= 24), durchgezogene Linie: Tacrolimus (n=26), Ordinate: Freiheit von akuter Abstoßungsreaktion (in Prozent), Abszisse: Zeit (Tage), log rank-Test  $p=0,23$

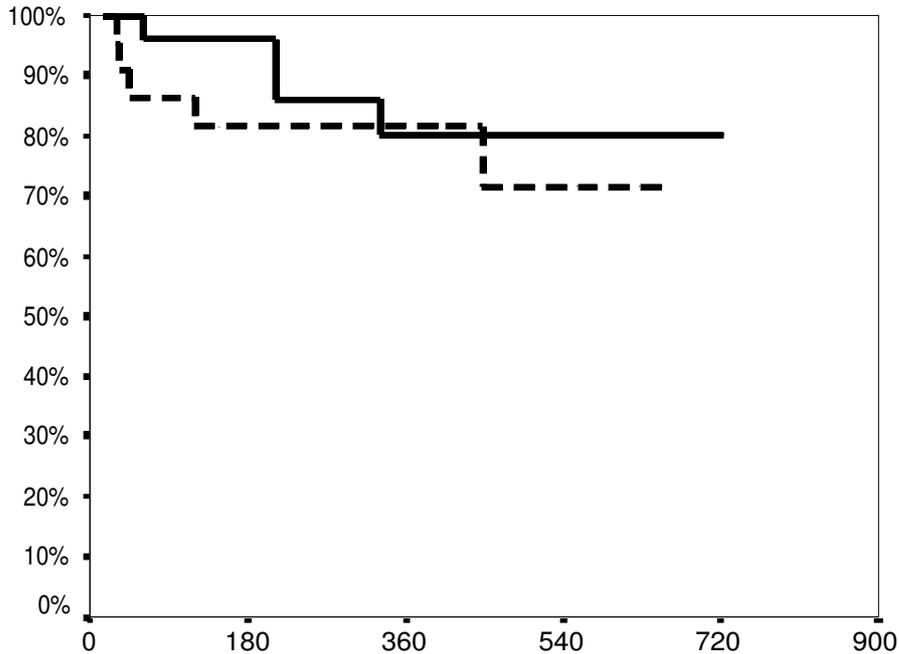


Diagramm 4: Freiheit von 2. akuter Abstoßungsreaktion, gestrichelte Linie: Cyclosporin (n=24), durchgezogene Linie: Tacrolimus (n=26), Ordinate: Freiheit von 2. akuter Abstoßungsreaktion (in Prozent), Abszisse: Zeit (Tage), log rank-Test  $p=0,50$

#### **4. Wechsel der Immunsuppression**

In der Cyclosporin-Gruppe wurde bei vier Patienten ein Wechsel („switch“) der primären Immunsuppression (von Cyclosporin auf Tacrolimus) durchgeführt, um persistierende, therapieresistente Abstoßungsreaktionen zu behandeln. Bei drei Patienten verlief der Wechsel erfolgreich und es traten bei diesen Patienten in der follow-up-Zeit keine akute Abstoßungsreaktionen mehr auf. Der vierte Patient entwickelte ein progredientes Bronchiolitis obliterans Syndrom Grad 3 und verstarb 8 Monate nach dem Wechsel auf Tacrolimus.

#### **5. Infektionen**

##### **5.1 Bakterielle Infektionen**

In der Cyclosporin-Gruppe gab es -in Wien und München zusammen- im beobachteten Zeitraum 12 bakterielle Infektionen bei 10 Patienten. Das ergibt einen Wert für Infektionen ( $\pm$  Standardabweichung) von  $0,23 \pm 0,38$  pro 100 Patiententage. In der Tacrolimus-Gruppe wurden 15 bakterielle Infektionen bei 13 Patienten diagnostiziert - pro 100 Patiententage errechnet sich ein Wert ( $\pm$ Standardabweichung) von  $0,24 \pm 0,40$ .

Die Daten aus unserem Zentrum (München-Großhadern) wurden bezüglich der Infektionen gesondert ausgewertet: In der Cyclosporin-Gruppe wurden im beobachteten Zeitraum 5 bakterielle Infektionen bei 4 Patienten diagnostiziert. Das ergibt für die Infektionshäufigkeit einen Wert ( $\pm$ Standardabweichung) von  $0,31 \pm 0,44$  pro 100 Patiententage. In dieser Gruppe kam es zu vier Infektionen mit koagulase-negativen Streptokokken nach 7, 11, 21 und 32 Tagen. Ein Patient hatte zusätzlich eine Infektion mit Methicillin-resistentem Staphylokokkus aureus nach 165 Tagen.

In der Tacrolimus-Gruppe gab es 5 bakterielle Infektionen bei 4 Patienten. Pro 100 Patiententage ergibt das einen Wert ( $\pm$  Standardabweichung) von  $0,25 \pm 0,40$ . Eine Infektion wurde durch koagulase-negative Streptokokken hervorgerufen und führte nach 30 Tagen zu einem Pleuraempyem. Bei weiteren Infektionen handelte es sich um einen Skrotalabszeß durch Pseudomonas spec. nach 35 Tagen und eine Pulmonaltuberkulose nach 198 Tagen. Schließlich wurden bei einem Patient eine

Infektion mit *Stenotrophomonas maltophilia* (vermutlich aus der Spenderlunge) nach 5 Tagen und eine Pulmonaltuberkulose, hervorgerufen durch *Mykobakterium avium*, nach 180 Tagen diagnostiziert.

## 5.2 Virale Infektionen

Die Verteilung der Infektionen im gesamten Patientengut (München und Wien) zeigt sich wie folgt: In der Cyclosporin-Gruppe waren 13 virale Infektionen bei 9 Patienten mit einem Wert ( $\pm$ Standardabweichung) von  $0,11 \pm 0,16$  pro 100 Patiententage zu verzeichnen. In der Tacrolimus-Gruppe kam es zu 13 viralen Infektionen bei insgesamt 11 Patienten. Pro 100 Patiententage ergibt das einen Wert von  $0,13 \pm 0,19$ .

Die gesonderte Auswertung der Daten aus München ergab: In der Cyclosporin-Gruppe waren 3 virale Infektionen bei 2 Patienten mit einem Wert ( $\pm$ Standardabweichung) von  $0,088 \pm 0,165$  auf 100 Patiententage zu verzeichnen. Es handelte sich bei allen viralen Infektionen um Cytomegalievirus-Infektionen. Die ersten positiven Werte des CMV-Clonab traten nach 57 und 90 Tagen auf, wobei es beim letzteren Fall zu einer Reaktivierung nach 450 Tagen kam, nachdem unter Ganciclovirtherapie die Infektion zunächst erfolgreich behandelt werden konnte. Das CMV-Matching des ersten Patienten war Spender positiv / Empfänger positiv. Beim zweiten Patienten bestand ein CMV-Mismatch (Spender positiv / Empfänger negativ). Dieser Patient entwickelte darüber hinaus zwei akute Abstoßungsreaktion nach 6 und 33 Tagen, die durch immunsuppressive Stoßtherapie erfolgreich beherrscht werden konnten.

In der Tacrolimus-Gruppe kam es zu 3 viralen Infektionen bei insgesamt 3 Patienten. Pro 100 Patiententage ergab das einen Wert ( $\pm$  Standardabweichung) von  $0,07 \pm 0,19$ . Auch in dieser Gruppe gab es ausschließlich Cytomegalievirus-Infektionen, welche nach 45, 72 und 80 Tagen auftraten. Bei allen drei Patienten bestand ein CMV-Mismatch (Spender positiv / Empfänger negativ). Beim dritten Patienten kam es nach 8 Tagen zu einer akuten Abstoßungssepisode die erfolgreich therapiert wurde.

### 5.3 Fungale Infektionen

Die Auswertung der Daten aus dem gesamten Patientengut (München und Wien) ergab: In der Cyclosporin-Gruppe kam es zu einer einzigen fungalen Infektion mit einem Wert von  $0,03 \pm 0,13$  pro 100 Patiententage. In der Tacrolimus-Gruppe gab es 8 fungale Infektionen bei 7 Patienten. Das ergibt auf 100 Patiententage ( $\pm$ Standardabweichung)  $0,08 \pm 0,19$  ( $p=n.s.$ ).

Die Auswertung der Münchener Patienten erbrachte folgendes Ergebnis: In der Cyclosporin-Gruppe kam es zu einer einzigen fungalen Infektion, genauer einer Aspergillose am 17. Tag post operationem. Dies entspricht einem Wert von  $0,078 \pm 0,22$  pro 100 Patiententage ( $\pm$ Standardabweichung).

In der Tacrolimus-Gruppe gab es 3 fungale Infektionen bei 3 Patienten. Es handelte sich zwei Fällen um Candida-Infektionen (100. und 112. Tag p.o.). Ein Patient hatte zusätzlich eine Aspergillose (112. Tag p.o.). Das ergibt pro 100 Patiententage ( $\pm$ Standardabweichung)  $0,09 \pm 0,14$ .

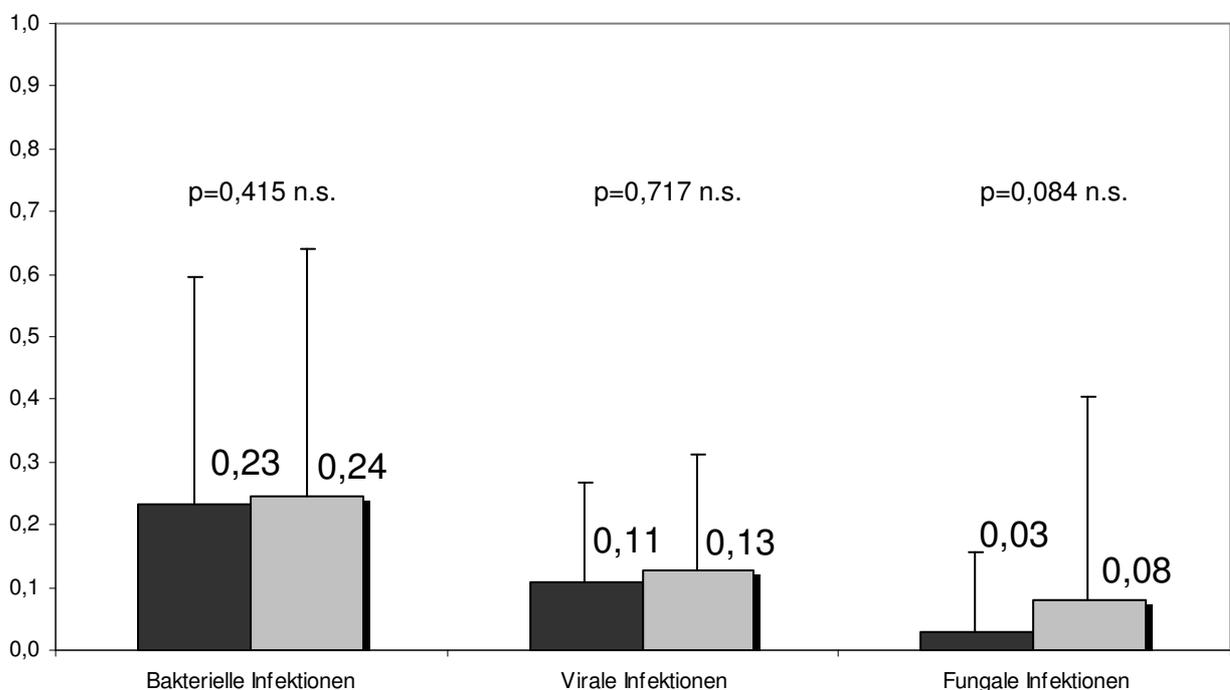
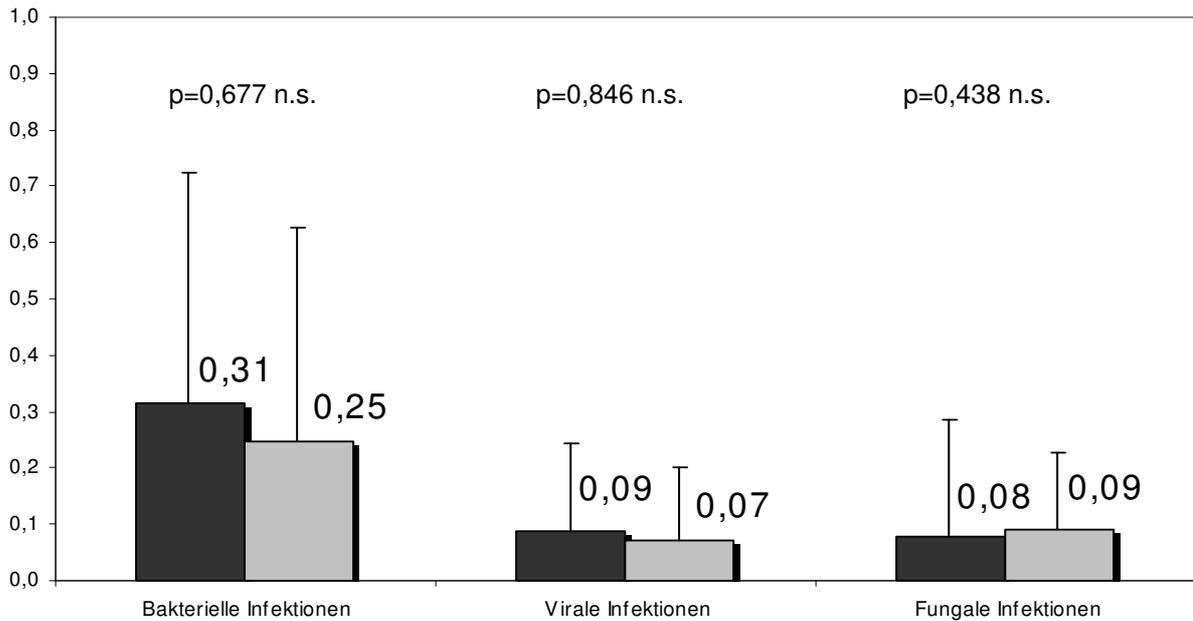


Diagramm 5: Infektionen der wiener und münchener Patienten (Mittelwert pro 100 Patiententage), dunkle Balken Cyclosporin (n=24), helle Balken Tacrolimus (n=26)

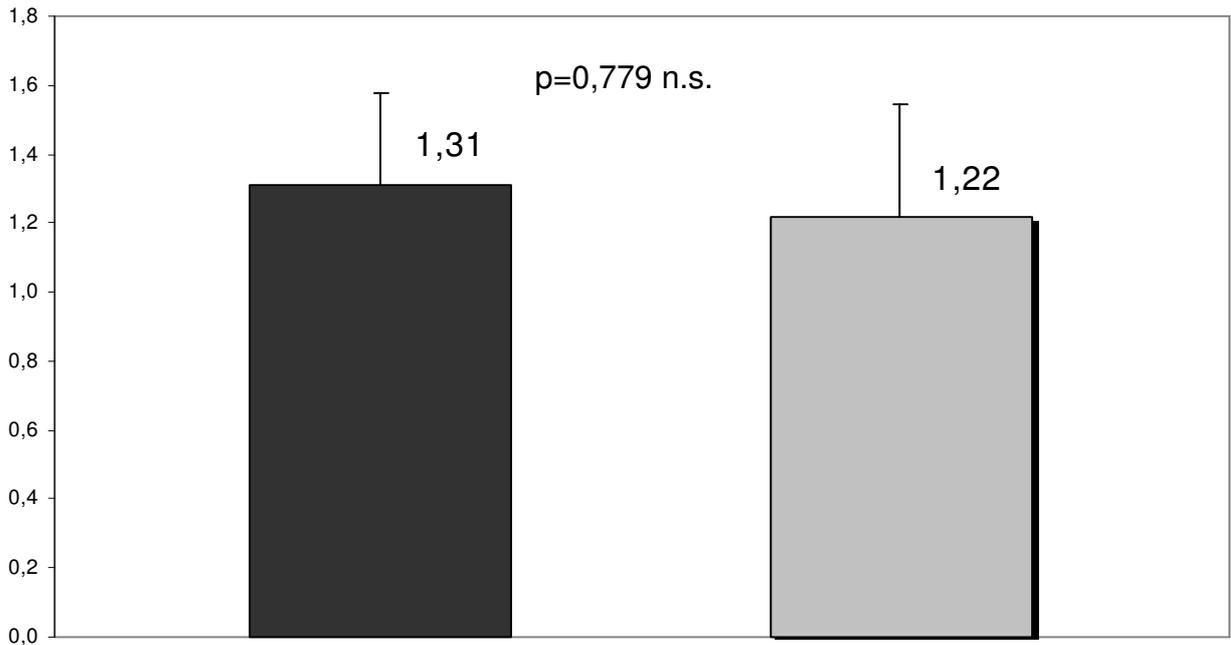


*Diagramm 6: Infektionen der Patienten in München (Mittelwert pro 100 Patiententage), dunkle Balken Cyclosporin (n=8), helle Balken Tacrolimus (n=9)*

## 6. Nierenfunktion

Die Nephrotoxizität wurde über den Kreatininspiegel im Serum gemessen. Dabei bildete ein Kreatininspiegel über 2 mg/dl den Grenzwert der Nierenfunktionsstörung. Dies trat jedoch bei keinem Patienten auf. Kein Patient benötigte nach dem 30. postoperativen Tag (bis zum Ende der follow-up Periode) eine Hämofiltration oder Hämodialyse. Es ergab sich kein signifikanter Unterschied bezüglich der Nierenfunktion in den beiden Gruppen.

Im Durchschnitt betrug der Serumkreatininspiegel ( $\pm$ Standardabweichung) in der Cyclosporin-Gruppe nach 12 Monaten  $1,31 \pm 0,27$  mg/dl mit einem maximalen Kreatininwert von 1,68 mg/dl und einem minimalen Kreatininwert von 0,87 mg/dl. In der Tacrolimus-Gruppe betrug der durchschnittliche Kreatininspiegel ( $\pm$ Standardabweichung)  $1,22 \pm 0,33$  mg/dl mit einem Maximalwert von 1,80 mg/dl und einen Minimalwert von 0,92 mg/dl.



*Diagramm 7: Kreatininspiegel im Serum (Mittelwert in mg/dl) der Patienten in Wien und München 6 Monate post transplantationem, dunkler Balken Cyclosporin, heller Balken Tacrolimus*

## 7. Arterieller Hypertonus

Der arterielle Bluthochdruck wurde über die Einnahme von antihypertensiven Medikamenten über den Zeitraum von drei Monaten definiert.

Sieben Patienten aus der Cyclosporin-Gruppe (29 %) entwickelten 12 Monate post transplantationem einen arteriellen Hypertonus und wurden mit antihypertensiven Medikamenten behandelt. Vergleichsweise waren in der in der Tacrolimus-Gruppe nur drei Patienten (12%) auf blutdrucksenkende Medikamente (Angiotensinkonversionsenzym (ACE)-Hemmer,  $\beta$ -Rezeptorenblocker) angewiesen.

## 8. Hyperlipidämie

Die Hyperlipidämie wurde über Cholesterin-Spiegel ( $\geq 300$  mg/dl) und die Behandlung mit lipidsenkenden Medikamenten über den Zeitraum von drei Monaten definiert.

Therapie der Wahl waren Statine (HMG-CoA-Inhibitoren= Cholesterinsynthese (CSE)-Hemmstoff).

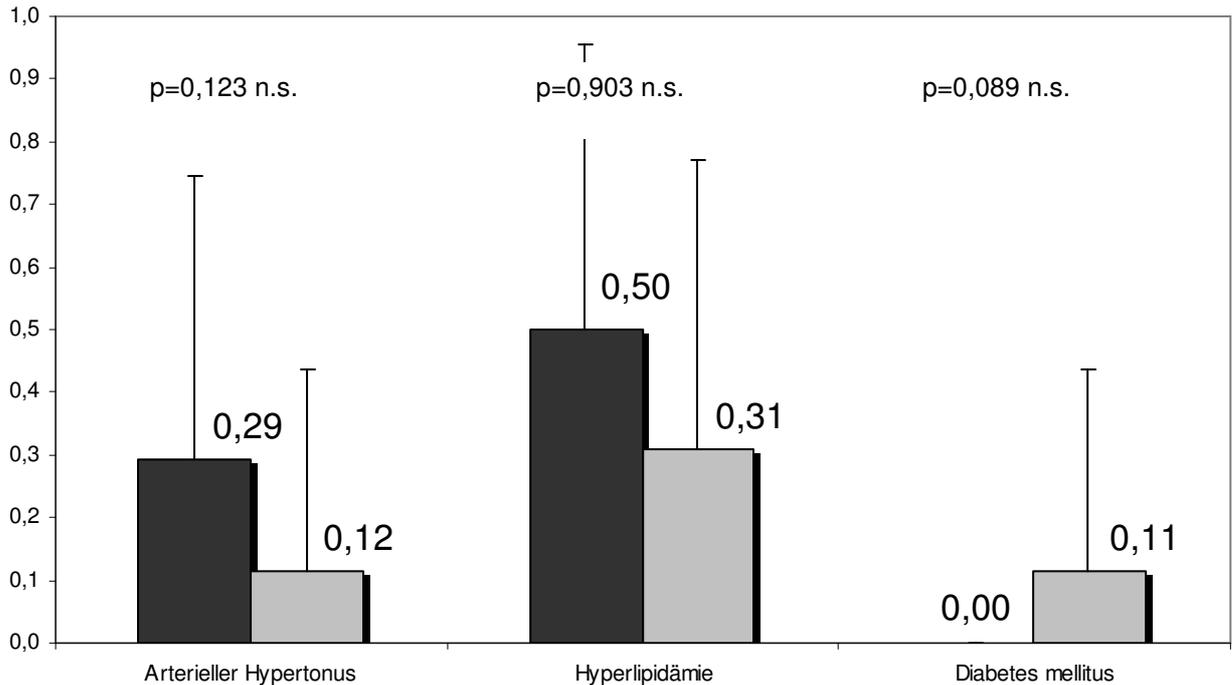
12 Patienten (50%) der Cyclosporin-Gruppe erhielten im ersten Jahr Statine zur Behandlung einer Hyperlipidämie. In der Tacrolimus-Gruppe wurden nach 12 Monaten 8 Patienten (30%) mit Statinen behandelt.

## **9. Diabetes mellitus**

Diabetes mellitus wurde über die medikamentöse Therapie oder Insulintherapie definiert, welche per definitionem drei Monate lang durchgeführt werden musste. Erhöhte Blutzuckerwerte, die über kurze Phasen während des Ausschleichens der Kortikosteroide auftraten, wurden nicht als Manifestation eines Diabetes mellitus gewertet, wenn sich die Blutglukosespiegel im Anschluß an diese Phase normalisierten.

In der Cyclosporin-Gruppe entwickelte kein Patient einen Diabetes mellitus nach der Transplantation. Drei Patienten (11,5 %) der Tacrolimus-Gruppe entwickelten einen „new onset diabetes mellitus“ (NODM).

Bei einem Patient aus der Tacrolimus-Gruppe bestand bereits präoperativ ein Diabetes mellitus, welcher oral behandelt wurde. In der Cyclosporin-Gruppe befand sich ein Patient mit einem insulinpflichtigem Diabetes mellitus, der erstmals drei Monate vor der Transplantation auftrat. In beiden Fällen blieb der Befund nach der Transplantation unverändert und verschlechterte sich nach der Transplantation nicht.



*Diagramm 8: Vergleich der Nebenwirkungen der Patienten in Wien und München nach 6 Monaten, dunkle Balken Cyclosporin (n=24), helle Balken Tacrolimus (n=26)*

## 10. Andere unerwünschte Wirkungen

Bei einem Patienten der Cyclosporin-Gruppe kam es 28 Tage post operationem zu einer fokalen Epilepsie mit den Zeichen einer mittelgradigen Funktionstörung, die möglicherweise durch Prednison oder Cyclosporin ausgelöst wurde. Dieser Patient erhielt am 7. postoperativen Tag eine Kortikoid-Stoßtherapie aufgrund einer akuten Abstoßung (3x500mg Prednison).

Nach 253 Tagen post transplantationem entwickelte ein anderer Patient aus der Cyclosporin-Gruppe eine ausgeprägte Sicca-Symptomatik mit starker inflammatorischer Komponente.

Ein weiterer Lungenempfänger aus der Tacrolimus-Gruppe entwickelte 18 Tage post transplantationem eine floride Psychose (paranoid-halluzinatorisch) die möglicherweise durch Prednison oder Tacrolimus ausgelöst wurde. Bei dem Patienten erfolgte jedoch vorher keine hochdosierte Stoßtherapie mit Steroiden. Die oben geschilderten

Symptome konnten durch eine medikamentöse Behandlung mit Haloperidol und Midazolam (Nachts) innerhalb kurzer Zeit zum abklingen gebracht werden.

## **11. Bronchiolitis obliterans Syndrom (BOS)**

### **11.1 Bronchiolitis obliterans Syndrom bei Patienten Wien und München**

In der Cyclosporin-Gruppe entwickelten zwei Patienten (8,3 %) ein Bronchiolitis obliterans Syndrom (BOS) Grad 1 nach 120 und 450 Tagen. Der erste Patient wurde wegen wiederholten resistenten akuten Abstoßungsepisoden, auf Tacrolimus umgestellt. In der Folge kam es jedoch zu einer (verlangsamt) fortschreitenden, chronischen Abstoßungsreaktion bis zu BOS Grad 3. Der Patient verstarb acht Monate nach dem Wechsel der Immunsuppression. Beim zweiten Patienten kam es innerhalb der follow-up Zeit zu einer BOS-Progression bis zu Grad 3. In der Tacrolimus-Gruppe entwickelten ebenfalls zwei Patienten (7,6%) ein BOS nach 90 und 400 Tagen. Beim ersten Patienten bestand zum Ende des follow-up ein BOS Grad 1. Beim zweiten Patienten verschlechterten sich die FEV1 Werte und der Patient entwickelte 15 Monate post transplantation ein BOS Grad 3. Zwei Monate nach der Lungentransplantation erreichte der Patient seinen FEV1-Bestwert von 2,08 Litern. Zwölf Monate später also 14 Monate nach der Transplantation betrug der FEV1-Wert noch 1,24 Liter. Nach 17 Monaten post transplantationem war der Patient in der forcierten Expiration nur noch in der Lage einen FEV1-Wert von 0,8 Litern zu erreichen. Bei diesem unerfreulichen Krankheitserlauf spielte die fehlende Compliance des Patienten eine Rolle.

## **F Diskussion**

### **1. Grunderkrankungen**

Die Verteilung der Grunderkrankungen stellten sich in unserem Patientengut (Wien und München, n=50) ähnlich den Daten aus dem Register der International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) von 2005 dar (Trulock et al., 2005): Lungenemphysem (42%), Lungenfibrose (35%), primär pulmonale Hypertonie (6%), Mukoviszidose (6%),  $\alpha$ 1-Antitrypsinmangel (4%), andere (8%). Es wurden zwei Retransplantationen (3,8 %) wegen frühem Transplantatversagen nach Perfusionsschaden und Transplantatversagen in Folge einer frühen akuten Abstoßungsreaktion durchgeführt.

Die Indikationen zur unilateralen Lungentransplantation (SLTX) bei Erwachsenen werden durch chronisch obstruktive Lungenerkrankungen dominiert. Bei der Therapie der Mukoviszidose hat sich die bilaterale (DLTX) durchgesetzt, weil bei der bilaterale (DLTX) gegenüber der unilateralen Transplantation (SLTX) prinzipiell weniger Infektionen auftreten. Eine unilaterale Transplantation (SLTX) kommt für Mukoviszidose-Patienten nicht in Frage, weil bei einem Verbleiben der chronisch infizierten nativen Lunge in situ ein erhöhtes Risiko für eine übergreifende Infektion auf die transplantierte Lunge und auch zur extrapulmonalen Disseminierung besteht. Deshalb wurde in dieser Studie bei allen Patienten mit Mukoviszidose (n=3) eine bilaterale Lungentransplantation durchgeführt (Trulock et al., 2005).

### **2. Überleben nach LTX**

Innerhalb von einem Jahr verstarben in Wien und München in der Cyclosporin-Gruppe 5 von 24 Patienten und in der Tacrolimus-Gruppe 8 von 26 Patienten, was einer Einjahresüberlebensquote von 79% resp. 69% ( $p=n.s.$ ) entsprach. Die Einjahresüberlebensquote in beiden Gruppen gemeinsam (n=50 Patienten) betrug 74%. Die Gesamtüberlebensquote nach einem Jahr ist mit den Ergebnissen der ISHLT vergleichbar (Trulock et al., 2005). Die Einjahresüberlebensquoten in den beiden Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant. Es konnten keine Faktoren für das

unterschiedlich erscheinende Einjahresüberleben (83% vs. 69%) identifiziert werden und wurden als zufällig interpretiert. Auch in einer von unserer Arbeitsgruppe initiierten internationalen, multizentrischen Folgestudie (n=274) konnte nach einem Jahr kein signifikanter Überlebensvorteil für eine der Gruppen festgestellt werden (Tac. vs. CyA entspr. 89,1% vs. 90,6%, p=n.s.) (Reichenspurner et al., 2005).

Laut den aktuellen Registerdaten der ISHLT mit über 19000 weltweit lungentransplantierten Patienten aus den Jahren 1985 bis 2004, besteht eine signifikante Verbesserung der Überlebensquoten beim Vergleich der Jahre 1995-1999 vs. 2000-06/2003 ( $p < 0,001$ ). Unsere Daten wurden von 1997 bis 1999 erhoben. Zu dieser Zeit entsprachen die Überlebensquoten unseres Patientenkollektives denen der ISHLT. Seither zeigte sich eine weitere tendenzielle Verbesserung der weltweiten Überlebensquoten, wahrscheinlich aufgrund der wachsenden Erfahrung der Zentren beim Eingriff (z.B. Spendermanagement, operative Techniken) und vor allem auch aufgrund von verbesserter Immunsuppression (Trulock et al., 2005).

Nach einem Jahr nach der Transplantation konnte ein Überlebensvorteil für Patienten mit einer bilateralen Transplantation gezeigt werden. Nach über drei Jahren follow-up nimmt dieser Überlebensvorteil sogar noch zu. Die Empfänger von Einzel- und Doppellungentransplantationen unterscheiden sich jedoch in mehreren Variablen, darunter Altersverteilung und Indikation. Aus diesem Grund ist die Schlußfolgerung, die bilaterale wäre der unilateralen Lungentransplantation überlegen, nicht haltbar (Trulock et al., 2003; Trulock et al., 2005).

In unserer Studie bestand kein Überlebensvorteil für Patienten mit bilateraler Lungentransplantation nach einem Jahr. Die perioperative Mortalität zwischen unilateraler und bilateraler Lungentransplantation unterscheidet sich nicht.

### **3. Todesursachen**

Die meisten Todesfälle nach der Lungentransplantation werden im ersten Jahr durch Infektionen hervorgerufen. Nach etwa einem bis drei Jahren wird die Bronchiolitis obliterans zur Haupttodesursache, aber auch in diesem Zeitraum spielen Infektionen eine wichtige Rolle bezüglich Morbidität und Mortalität.

Bei der zeitlichen Einordnung von Todesfällen sollte zwischen der frühen Phase (<90d) und späten Phase (>90d) nach LTX unterschieden werden. Das Risiko nach Lungentransplantation zu versterben ist in den ersten drei Monaten nach der

Transplantation am höchsten. Die Ursachen hierfür sind die Operation per se einschließlich früher postoperativer Phase, primäres Transplantatversagen und Reperfusionsschaden als Ursache für akutes Lungenversagen (adult respiratory distress syndrome, ARDS) und bakterielle Infektionen. In der späteren Phase dominieren Infektionen, darunter auch virale und fungale Infektionen, sowie chronische Abstoßungen. Dies geht aus retrospektiven Studien und Risikoanalysen hervor und konnte auch im internationalen Register von 2005 gezeigt werden (Bando et al., 1995) (Chaparro et al., 1994) (Trulock et al., 2003). Bei den vier in der Frühphase verstorbenen Patienten (<100 Tagen) in unserer Studie war die Todesursache in allen Fällen eine bakterielle Infektion. In der Spätphase verstarben 7 Patienten an Infektionen, davon ein Patient mit Cytomegalievirus-Pneumonie und drei mit pulmonalen Aspergillusinfektionen. Ein Patient aus der Cyclosporin-Gruppe verstarb an einem Multiorganversagen infolge eines BOS nach 110 Tagen (BOS Grad 3, nicht histologisch gesichert).

Unsere Beobachtungen bezüglich der Todesursachen stimmten mit den Ergebnissen der oben zitierten Studien von Chaparro et al. und Bando et al. überein. In einem 3-Jahres follow-up eines größeren Patientenkollektives unserer Studiengruppe zeigten sich vergleichbare Überlebensraten (Tac 68% vs. CyA 57% Überleben nach 36 Monaten) sowie ein klarer Trend für späte akute Abstoßungsreaktionen (Tac 4% vs. CyA 24%,  $p=0,07$ ; n.s.). Schließlich war die Inzidenz von BOS in der Cyclosporin-Gruppe nach drei Jahren signifikant höher als in der Tacrolimus-Gruppe (CyA 41% vs. Tac 10%,  $p<0,01$ ) (Zuckermann et al., 2003).

## **4. Infektionen**

### **4.1. Allgemein**

Infektionen durch opportunistische Erreger zählen zu den Hauptursachen der postoperativen Morbidität und Mortalität nach LTx. Als Folge der immunsuppressiven Therapie, der Ischämie/Reperfusion des transplantierten Organs, der Störung des Lymphabflusses, der eingeschränkten mukoziliären Clearance als Folge der Denervation und der Störung von Zilienfunktion und Hustenreflex ist die transplantierte Lunge hochgradig infektgefährdet.

Klinische Zeichen einer pulmonalen Infektion sind: Verschlechterung der Lungenfunktion, Leukozytose und Infiltrat im Thorax-Röntgenbild. Das klinische Bild unterscheidet sich damit aber nicht wesentlich von den Zeichen einer akuten Abstoßungsepisode, welche ebenso als Differentialdiagnose in Betracht gezogen werden muß. Dies hat zur Konsequenz, daß grundsätzlich bei einer entsprechenden klinischen Konstellation eine intensive Diagnostik einschließlich einer Bronchioskopie erfolgen sollte, wobei eine bronchoalveoläre Lavage, Bürstenabstriche und transbronchiale Biopsien gewonnen werden sollten, sofern der klinische Zustand des Patienten dies erfordert und erlaubt. Bis zum Keimnachweis sollte eine breite kalkulierte Antibiotikatherapie durchgeführt werden. Bei erfolgreichem Erregernachweis sollte eine gezielte antimikrobielle Therapie erfolgen.

Der größte Anteil der schweren bakteriellen Infektionen tritt innerhalb des ersten Monats nach der Transplantation auf, während virale und fungale Infektionen in der späteren Phase nach der Transplantation auftreten (Chaparro et al., 1994). Weil sowohl Spender als auch Empfänger häufig mit potentiell pathogenen Keimen infiziert oder kolonisiert sind, spielt die antimikrobielle Prophylaxe und Therapie eine wichtige Rolle bei der postoperativen Versorgung. Die häufigsten nachgewiesenen bakteriellen Erreger in der frühen postoperativen Phase sind Gram negative Bakterien und *Staphylococcus species*. Deshalb sollte auch die Antibiotikaprophylaxe ein breites bakterielles Spektrum einschließlich *Pseudomonas species*, *Staphylococcus species* und Anaerobier abdecken. Carbapeneme oder Cephalosporine der dritten Generation in Kombination mit Clindamycin sollten für die ersten 48 bis 96 Stunden post operationem gegeben werden. Bei Patienten mit Mukoviszidose führten wir eine Antibiotikatherapie für die ersten 14 Tage nach der Transplantation durch. Bei der Wahl der antimikrobiellen Therapie sollte das Antibiogramm aus bakteriellen Spender- und Empfängerkulturen berücksichtigt werden.

Die Infektion bzw. Kolonisation mit multiresistenten *Pseudomonas species* spielt eine besondere Rolle bei Patienten mit Mukoviszidose. Eine chronische Besiedlung der Nasennebenhöhlen mit *Pseudomonas species* kann zu einer schweren Infektion der Spenderlungen post transplantationem führen. Aus diesem Grund sind Diagnose und Therapie der Sinusitis bei Patienten mit Mukoviszidose von besonderer Bedeutung,

wobei wir hier, in Übereinstimmung mit anderen Arbeitsgruppen, ein konservatives Vorgehen bevorzugen, d.h. nicht a priori die operative Sanierung der Nasennebenhöhlen fordern (Chaparro, Kesten, 1997; Fishman, Rubin, 1998). (Briegel et al., 1998).

Der Vergleich der Inzidenz von Infektionen ergab in einer prospektiven Studie von Keenan und Mitarbeitern ähnliche Ergebnisse bei der immunsuppressiven Therapie mit Cyclosporin, Azathioprin und Steroiden (n=67) im Vergleich zu Tacrolimus, Azathioprin und Steroiden (n=66). Die Prävalenz von CMV-Infektionen war, bei ausgewogenem serologischen Matching, in beiden Gruppen etwa gleich groß. Bakterielle Pneumonien waren häufiger in der Cyclosporin-Gruppe ( $0,92 \pm 2,16$  vs.  $0,33 \pm 0,82$  Infektionsepisoden pro 100 Patiententage). Im Gegensatz dazu war die Inzidenz von Pilzinfektionen in der Tacrolimus Gruppe höher ( $0,49 \pm 1,77$  vs.  $0,10 \pm 0,28$  Infektionsepisoden pro 100 Patiententage,  $p > 0,05$  n.s.) (Keenan et al., 1995; Keenan et al., 1998).

Dies zeigte sich auch in einer retrospektiven Studie unserer Studiengruppe, bei der die Daten von 100 Patienten nach Lungentransplantation analysiert wurden. Auch hier war die Inzidenz von fungalen Infektionen in der Tacrolimus-Gruppe tendenziell erhöht (H.Treede, 2001). Unsere prospektive Studie bestätigte die oben gemachten Aussagen. Die bakteriellen Infektionen traten in beiden Gruppen gehäuft in der frühen Phase nach der Transplantation auf, während sich die viralen und fungalen Infektionen später ereigneten. Analog traten die tödlich verlaufenden bakteriellen Infektionen in allen Fällen in der Frühphase nach der Lungentransplantation, also in den ersten 3 Monaten, auf. Darüber hinaus erfolgten die tödlich verlaufenden fungalen und viralen Infektionen in der späteren Phase innerhalb des ersten Jahres. Schließlich kam es in der Tacrolimus-Gruppe häufiger zu fungalen Infektionen (n=8 vs. n=1). Aufgrund der niedrigen Patientenzahl bei diesem Studiendesign war der Unterschied jedoch nicht statistisch signifikant.

## **4.2 CMV-Infektionen**

Das Cytomegalievirus (CMV) ist hinsichtlich Morbidität und Infektionshäufigkeit einer der bedeutendsten Erreger nach Lungentransplantation, wobei Infektionen mit dem

Cytomegalievirus übliche Komplikationen nach Organtransplantation sind. Je nach Zentrum variiert die Inzidenz, zwischen 39% und 65% bei Lungen- und Herz-Lungenempfängern (Soghikian et al., 1996). Der Ursprung einer CMV-Infektion kann das transplantierte Organ selbst oder die Reaktivierung einer latenten Infektion des Empfängers durch die immunsuppressive Therapie sein. Eine andere Infektionsquelle können Transfusionen von Blut und Blutprodukten sein, weshalb wir nur Leukozyten-depletierte Blutprodukte verabreichen. Ein weiteres Problem stellen bakterielle und fungale Superinfektionen dar, die bei Patienten mit CMV-Infektionen häufiger vorzukommen scheinen (Duncan et al., 1991). Der klinische Verlauf ist vielgestaltig und reicht über asymptomatische Verläufe, bis hin zu Pneumonie und schweren generalisierten Verläufen. Die Infektion kann lokal begrenzt oder disseminiert sein. Die Lunge, der Gastrointestinaltrakt und die Retina sind die am häufigsten infizierten Organe (Cooper et al., 1991).

Die Inzidenz von CMV-Infektionen ist abhängig vom Cytomegalieserostatus von Spender und Empfänger. Liegt ein Mismatch zwischen Spender und Empfänger vor, erreicht die Prävalenz der Cytomegalievirusinfektion 70 %. Wenn Spender und Empfänger seronegativ sind, ist das Infektionsrisiko gering (10 %), sofern sichergestellt wird, daß auch nur Cytomegalievirusnegative Blutprodukte verabreicht werden. Das höchste Risiko für eine CMV-Infektion besteht für die Gruppe mit seropositivem Spender und seronegativem Empfänger. Für diese Patienten berichten Duncan et al. von einer Inzidenz von 80% für CMV-Pneumonien (Duncan et al., 1991). Laut den Registerdaten der ISHLT von 2003 war das Risiko für diese Patienten nach fünf Jahren nach der Transplantation zu versterben signifikant erhöht (Trulock et al., 2003). Dies konnte in den Register von 2005 in der die Daten der Jahre 1995 bis 06/1999 verarbeitet wurden nicht bestätigt werden (Trulock et al., 2005). Bei vier von fünf Patienten (CyA-Gruppe n=2, Tac-Gruppe n=3), die in München eine CMV-Infektion entwickelten bestand ein CMV-Mismatch, also ein seropositiver Spender und ein seronegativer Empfänger (CyA-Gruppe n=1, Tac-Gruppe n=3). Dies steht im Einklang mit den oben gemachten Aussagen.

Besonders gefährdet sind grundsätzlich auch Patienten, die mit zytolytischen Substanzen behandelt werden und/oder eine akute Abstoßung entwickeln. Außerdem wurden CMV-Infektionen in der Literatur mit der Gabe von

Antilymphozyten Globulinen und mit chronischen Abstoßungsreaktionen in Verbindung gebracht (Rubin, 1990; Duncan et al., 1991; Dunn et al., 1994). In zwei Fällen ging, in unserer Studie, der CMV Infektion eine akute Abstoßungsreaktion voraus. Abstoßungsreaktionen werden mit Cortisonstoßtherapie behandelt, welches die Gefahr einer CMV-Infektion vergrößert. Umgekehrt können virale Infektionen eine Immunaktivierung erzeugen, welche das Risiko für Abstoßungen steigert. Dieser Teufelskreis stellt ein wesentliches diagnostisches und therapeutisches Dilemma dar (Soghikian et al., 1996). Es bleibt allerdings kontrovers, ob die CMV-Infektion selbst die akute Abstoßungsreaktionen (durch gesteigerte HLA Klasse II Antigen Expression) hervorruft oder ob die Abstoßungsreaktion und die damit verbundene forcierte immunsuppressive Therapie den Patienten zu einer CMV Infektion prädisponiert. Zudem wird die Infektion mit dem Cytomegalievirus als eine Ursache für die Entwicklung der Bronchioitis obliterans diskutiert (siehe Diskussion der Bronchiolitis obliterans) (Sharples et al., 2002; Estenne et al., 2002).

Die Gabe von Ganciclovir stellt die Standardbehandlung der Cytomegalievirusinfektion dar. Es konnte gezeigt werden, dass die prophylaktische Gabe von Ganciclovir das Überleben nach Herz-Lungen- und Lungentransplantation verbessert, in dem es die Inzidenz und den Schweregrad der CMV-Erkrankung senkt und die Häufigkeit von respiratorischem Versagen als Folge von CMV-Pneumonitis verringert. Weiterhin verzögert die Ganciclovirprophylaxe den Beginn von CMV-Infektionen und Bronchiolitis obliterans (Soghikian et al., 1996). Jedoch weist Ganciclovir eine signifikante Toxizität für Knochenmark und "Reproduktionsorgane" auf (Bando et al., 1995; Soghikian et al., 1996; Chaparro et al., 1994). Zudem gibt es Berichte über Resistenzentwicklung nach Ganciclovirtherapie. Deshalb wird die prophylaktische Gabe von Ganciclovir, ausgenommen bei ungünstigem Mismatch, kontrovers diskutiert (Soghikian et al., 1996; Speich et al., 1999; Bailey et al., 1992; Egan et al., 1998). Bei CMV-Mismatch (seropositiver Spender und seronegativer Empfänger) führten wir eine Ganciclovir-Prophylaxe durch.

Von einigen Gruppen einschließlich unserer eigenen wird aber grundsätzlich eine sog. "pre-emptive"-Therapie mit Ganciclovir propagiert. Dies bedeutet, daß Risikopatienten in bestimmten Intervallen hinsichtlich einer Antigenämie untersucht und bei Anzeichen der Antigenämie auch ohne Vorliegen einer manifesten Erkrankung mit Ganciclovir

behandelt werden. Dabei wird also versucht, den Patienten frühzeitig zu therapieren und zugleich Nebenwirkungen und Resistenzentwicklungen zu vermeiden (Kelly et al., 2000; Egan et al., 1998).

Zusätzlich zur Therapie mit Ganciclovir wurden die Patienten in dieser Studie mit Cytomegalievirus-Hyperimmunglobulin behandelt. Dabei erhielten die Patienten postoperativ Cytomegalievirus-Hyperimmunglobulin 100 mg/kgKG zweimal pro Woche für zwei Wochen, gefolgt von 100 mg/kgKG alle vierzehn Tage für drei Monate. Das Cytomegalievirus-Hyperimmunglobulin wird unter der Vorstellung eingesetzt, dass damit eine passive Immunisierung erzielt werden kann (Dunn et al., 1994; Gutierrez et al., 1998). Es gibt Hinweise für einen vorteilhaften und additiven Effekt zur Verhinderung von CMV Infektionen bei lungentransplantierten Patienten (Valentine, 1995). Eine derartige Vorgehensweise erscheint auch aufgrund von Befunden berechtigt, bei denen, wohl als Folge der intensiven Ganciclovirprophylaxe, Fälle von Ganciclovirresistenz von Cytomegalieviren beobachtet wurden (Kruger et al., 1999). Alternativ zu Ganciclovir, bzw. bei der Entwicklung einer Ganciclovir-Resistenz, kann auch Foscarnet gegeben werden, wobei eine schwere Beeinträchtigung der Nierenfunktion und gastrointestinale Nebenwirkungen möglich sind (Moretti et al., 1998). Bei der Entwicklung von kreuzresistenten Stämmen könnte in Zukunft Cidofovir Verwendung finden. Auch Valganciclovir könnte die orale Therapie verbessern und subtherapeutische Spiegel vermeiden, die bei oraler Gabe von Ganciclovir auftreten können, weil es oral eine ähnlich gute Bioverfügbarkeit wie Ganciclovir i.v. besitzt. Andererseits besitzt es dieselbe Toxizität wie intravenöses Ganciclovir. Hinsichtlich der Toxizität zeigen sich keine Unterschiede für orales Valganciclovir verglichen mit intravenösem Ganciclovir (Zamora, 2002).

### **4.3 Aspergillus-Infektionen**

Aspergillus-Infektionen gehören zu den typischen opportunistischen Infektionen, die aufgrund der Immunsuppression nach Organtransplantationen auftreten. Aspergillen sind ubiquitäre, in der Luft befindliche Keime, die bei der Atmung leicht in den Respirationstrakt gelangen. Außerdem können auch der Gastrointestinaltrakt und

intravaskuläre Katheter Eintrittspforten für fungale Infektionen sein. Darüber hinaus ist bei lungentransplantierten Patienten eine Verschleppung dieser Keime aus der Spenderlunge möglich, was gleichfalls aufgrund der Immunsuppression zu Infektionen führt. Zudem sind Aspergillen besonders schwierig zu therapieren, wobei allerdings auch hier ein weites Spektrum der möglichen klinischen Präsentation von asymptomatischer Kolonisierung über Tracheobronchitis, Pneumonie, Aspergillom bis hin zur invasiven Aspergillose besteht. Die Prävalenz der Aspergillusinfektion beträgt, je nach Studie, 20 bis 64 %, die damit verbundene Mortalität wird auf 30 bis 75 % beziffert (Westney et al., 1996; Cahill et al., 1997; Grossi et al., 2000)

In einer Studie von Westney und Mitarbeitern entwickelten nach 93 bilateralen und 48 unilateralen Lungentransplantationen, 31 Patienten (31/141=22%) eine Infektion mit Aspergillen. Von diesen 31 mit Aspergillen infizierten Patienten überlebten 20 (20/31=65%) und 11 (11/31=35%) verstarben. Empfänger von Einzel-Lungentransplantationen entwickeln häufiger komplizierte Infektionen, weil die native Lunge möglicher Ursprung von Infektionen sein kann, folglich war die Mortalität war nach unilateraler Transplantation viermal höher (7/10=70%) als bei bilateraler Transplantation (4/21=19%) (Westney et al., 1996).

Die invasive Aspergillose ist unter den fungalen Infektionen die gefürchtetste, weil die Mortalität trotz bestmöglicher Therapieoptionen hoch ist. Sie tritt etwa bei 14% bis 18% der Patienten nach Herz-Lungen- und Lungentransplantation auf (Guillemain et al., 1995) (Patterson et al., 2000; Kramer et al., 1993). Wegen der erheblichen Morbidität und Mortalität, die mit Aspergillusinfektionen verbunden ist, wird bereits der Nachweis von *Aspergillus* spp. in Lavageflüssigkeit, Bürstenabstrichen, endotrachealen Absaugungen oder im Sputum als ausreichende Indikation für eine entsprechende Therapie gesehen.

Als Risikofaktoren für die Aspergillus-Infektionen gelten die immunsuppressive Therapie (besonders nach Behandlung von Abstoßungsreaktionen), Neutropenie, rezidivierende Cytomegalievirus-Infektionen (Hibberd, Rubin, 1994), Baumaßnahmen im Krankenhausbereich, und Chemotherapie von lymphoproliferativen Erkrankungen als Transplantationsfolge. Nosokomiale Aspergillusinfektionen aufgrund von kontaminierten Klimaanlage und Baumaßnahmen im Krankenhausbereich sind häufig beschrieben worden (Arnou et al., 1978; Hopkins et al., 1989; Iwen et al.,

1993; Lentino et al., 1982; Walsh, Dixon, 1989). Uneinheitlich ist das Vorgehen bei Patienten mit Mukoviszidose bzgl. der infizierten Nasennebenhöhlen (Davidson et al., 1995). Während einzelne Zentren obligat einen operativen Eingriff zur Sanierung der Nasennebenhöhlen fordern, bevorzugen andere, wie wir, ein konservatives Vorgehen. Dabei werden präoperativ multiple Sputumkulturen mit detaillierter Resistenzanalyse vorgenommen. Auf der Basis dieser Befunde wird vom Zeitpunkt der Transplantation bis zum Verlassen der Intensivstation eine entsprechende antifungale Therapie durchgeführt.

Die "klassische" Therapie der Aspergillus-Infektion besteht in der intravenösen Gabe von Amphotericin B evtl. in Kombination mit Flucytosin. Bei der prophylaktischen Gabe von Amphotericin B empfiehlt es sich dieses als Lipidkomplex inhalativ zu applizieren um die Nephrotoxizität zu vermindern (Drew et al., 2004). Entsprechend Berichten in der Literatur bei anderen Indikationen und unserer Erfahrung nach bei lungentransplantierten Patienten ist die Gabe von Itraconazol bzgl. ihrer Effektivität als überlegen anzusehen, auch in hinsichtlich auf potentielle Nebenwirkungen (Hibberd, Rubin, 1994; Reichenspurner et al., 1997; Patterson et al., 2000; Yeldandi et al., 1995). Bei Patienten, die nicht in der Lage sind zu essen, ist die intestinale Absorption von Itraconazol jedoch stark eingeschränkt. Darüber hinaus wird die systemische Verfügbarkeit stark durch die gleichzeitige Gabe von Antazida und Protonpumpeninhibitoren herabgesetzt. Außerdem interferiert Itraconazol mit den Spiegeln von Cyclosporin A und Tacrolimus (Kramer et al., 1990) (Briegel et al., 1998; Billaud et al., 1998). Die ersten Berichte über Vorikonazol, ein neues Medikament zur Prophylaxe und Therapie von fungalen Infektionen waren vielversprechend (Mattner et al., 2005). Weitere Studien vor allem nach Lungentransplantation müssen folgen.

Bei drei Patienten führte in dieser Studie eine Aspergillus-Infektion zum Tode und in einem weiteren Fall bestand bei septischer Lage, zusätzlich zur Aspergillus-Infektion eine Infektion mit Methicillin-resistentem Staphylokokkus aureus. Dies entspricht einem Anteil an den Todesursachen von 30,8% (4/13). Beim Vergleich der Infektionen zeigt sich, dass in der Tacrolimus-Gruppe fungale Infektionen häufiger waren als in der Cyclosporin-Gruppe ( $0,08 \pm 0,19$  vs.  $0,03 \pm 0,13$  pro 100 Patiententage,  $p = \text{n.s.}$ ). Wobei unter den fungalen Infektionen Aspergillus-Infektionen sowohl quantitativ wie auch beim klinischen Management die Hauptrolle spielen.

Keenan et al. berichten von vergleichbaren Ergebnissen bezüglich der fungalen Infektionen (Tac  $0,49 \pm 1,77$  vs. CyA  $0,10 \pm 0,28$  pro 100 Patiententage,  $p < 0,05$ ), wobei jedoch die Inzidenz höher und der Unterschied zwischen den beiden Gruppen nur schwach signifikant war (Keenan et al., 1995).

## 5. Akute Abstoßungsreaktionen

Es kam in Wien und München, im Zeitraum von September 1997 bis August 1999, in der Tacrolimus-Gruppe zu 15 akuten Abstoßungsepisoden bei 12 Patienten und vergleichsweise in der Cyclosporin-Gruppe zu 23 akuten Abstoßungen bei 16 Patienten. Die Inzidenz von Abstoßungen pro 100 Patiententage war unter Tacrolimus signifikant niedriger ( $0,225 \pm 0,307$  vs.  $0,426 \pm 0,540$ ;  $n=50$ ;  $p < 0,05$ ). Außerdem war die Freiheit von erstmaliger Abstoßungsreaktion ( $p=0,23$ ) und wiederholter Abstoßungsreaktion ( $p=0,50$ ) in der Tacrolimus-Gruppe nicht-signifikant größer als in der Vergleichsgruppe. Darüber hinaus war der Grad der akuten Abstoßungsreaktionen in der Tacrolimus-Gruppe meist niedriger als in der Cyclosporin-Gruppe (Tacrolimus-Gruppe: zweimal A1, fünfmal A2; Cyclosporin-Gruppe: zweimal A1-2, siebenmal A2, zweimal A3). Somit zeigte sich Tacrolimus bezüglich der immunsuppressiven Wirkung als effektiv, ohne jedoch Zeichen einer Übersupprimierung aufzuweisen (keine vermehrtes Auftreten von Infektionen, abgesehen von nicht-signifikanter Erhöhung der fungalen Infektionen bei Immunsuppression mit Tacrolimus). Dies konnte sowohl im gesamten Patientengut ( $n=50$ , Wien und München), als auch bei den Münchener Patienten demonstriert werden ( $n=17$ ).

Die Gruppe um Keenan verglich im Rahmen einer prospektiven randomisierten Studie die Effektivität von Cyclosporin und Tacrolimus als primäre Immunsuppression bei Lungentransplantationen und erhielt ähnliche Ergebnisse. Die Inzidenz von akuten Abstoßungsreaktionen pro 100 Patiententage war in der Tacrolimus-Gruppe nicht-signifikant niedriger als in der Cyclosporin-Gruppe ( $0,85 \pm 0,72$  vs.  $1,09 \pm 0,72$ ;  $n=133$ ;  $p=0,07$  n.s.). Analog dazu war die Freiheit von akuter

Abstoßungsreaktion in der Tacrolimus-Gruppe nicht-signifikant größer als in der Cyclosporin-Gruppe (14 % vs. 11,5 %,  $p = \text{n.s.}$ ) (Keenan et al., 1995). Diese Ergebnisse konnten nach einer follow-up Phase von drei Jahren bestätigt werden (Keenan et al., 1998). Es muss aber bemerkt werden, dass Cyclosporin und Tacrolimus in der o.g. Studie nicht, wie bei uns, mit MMF sondern mit Azathioprin kombiniert wurden. Dies ist möglicherweise ein Grund für die besseren Ergebnisse unserer Studie hinsichtlich der Abstoßungsreaktionen, da Mycophenolate Mofetil akute Abstoßungen effektiver zu unterdrücken scheint als Azathioprin (Ross et al., 1998; Kobashigawa et al., 1998; Meiser et al., 1999; Zuckermann et al., 1999).

Laut Bando und Mitarbeitern besteht für den Lungenempfänger in den ersten 100 Tagen nach der Transplantation ein erhöhtes Risiko eine akute Abstoßungsreaktion zu entwickeln, gefolgt von einer Phase mit mittlerem Risiko bis ca. 830 Tage post transplantationem (Bando et al., 1995). Unsere Daten stehen im Einklang dazu: in der Tacrolimus-Gruppe erfolgten 6 akute Abstoßungen innerhalb der ersten 14 Tage post transplantationem und 10 akute Abstoßungen erfolgten innerhalb der ersten 90 Tage nach der Transplantation. In der Vergleichsgruppe erfolgten 4 akute Abstoßungsreaktionen innerhalb der ersten zwei Wochen und 14 akute Abstoßungen ereigneten sich innerhalb der ersten 90 Tage. Die Wirkspiegel lagen in beiden Gruppen im angestrebten Zielbereich. In der multivariaten Analyse ergaben sich, in der o.g. Studie von Bando et al., als signifikante Risikofaktoren für die frühe akute Abstoßungsreaktion: Alter > 40 Jahre, CMV Mismatch („Hochrisikogruppe“ Spender positiv, Empfänger negativ), CMV Infektion, Einzel-Lungentransplantation und pulmonale Hypertension als Grunderkrankung. Für die späte akute Abstoßung ergaben sich als Risikofaktoren: frühere Abstoßungsreaktionen und CMV Infektionen (Bando et al., 1995). Tendenziell zeigt sich in unseren Daten eine nicht-signifikante Assoziation von frühen und späten akuten Abstoßungsreaktionen mit CMV-Infektionen. Außerdem scheinen vorhergegangene akute Abstoßungsreaktionen das Auftreten von späteren akuten Abstoßungen zu begünstigen.

Akute Abstoßungsreaktionen werden mit einer Steroidstoßtherapie nach folgendem Schema behandelt: Ist eine akute Abstoßungsreaktion nicht mit einer hochdosierten Steroidtherapie (Gabe von je 500 mg Methylprednisolon über drei Tage) zu durchbrechen („persistent rejection“), existieren für das weitere Vorgehen keine

allgemein festgelegte Standards. Viele Gruppen warten vor Erwägung alternativer Therapieformen noch die Effekte eines 2. Steroidpulses ab. Ist auch dieser nicht erfolgreich oder/und treten wiederholte Episoden („recurrent rejection“) auf, kommen die noch die folgenden genannten Verfahren in Betracht: Cyclosporin A absetzen und Wechsel auf Tacrolimus, Cyclosporin inhalativ, cytolytische Therapie (ATG), Lymphozytenbestrahlung und Photopherese. In dieser Studie wurde bei vier Patienten mit persistierenden, therapieresistente Abstoßungsreaktionen ein Wechsel der primären Immunsuppression von Cyclosporin auf Tacrolimus durchgeführt. Bei drei Patienten verlief der Wechsel erfolgreich und es traten bei diesen Patienten in der follow-up-Zeit keine akute Abstoßungsreaktionen mehr auf. Der vierte Patient entwickelte ein progredientes Bronchiolitis obliterans Syndrom Grad 3 und verstarb 8 Monate nach dem Wechsel auf Tacrolimus.

## **6. Bronchiolitis obliterans Syndrom (BOS)**

In der Cyclosporin-Gruppe entwickelten zwei Patienten (8,3 %) ein Bronchiolitis obliterans Syndrom (BOS) Grad 1 nach 120 und 450 Tagen (beide mit Progression zu BOS Grad 3 innerhalb der follow-up Periode). Bei dem ersten Patienten kam es in der Vorgeschichte zu zwei akuten Abstoßungsepisoden nach 90 und 120 Tagen. Bei dem zweiten Patienten kam es ebenfalls zu zwei akuten Abstoßungen nach 360 und 430 Tagen sowie zwei Episoden vom CMV-Infektion welche erfolgreich mit Ganciclovir therapiert werden konnten. In der Tacrolimus-Gruppe entwickelten zwei Patienten (7,6%) jeweils ein BOS Grad 1 nach 90 und 400 Tagen. Bei dem ersten Patienten erfolgte eine akute Abstoßungsreaktion nach 30 Tagen und er entwickelte in der Folge ein BOS Grad 1. Bei dem anderen Patienten kam es weder zu einer akuten Abstoßung noch zu Infektionen. Jedoch verschlechterten sich die FEV1 Werte zunehmend – bis hin zu BOS Grad 3 (15 Monate post transplantationem). Die regelmäßige Einnahme der immunsuppressiven Medikamente muss bei diesem Patienten, aufgrund mangelnder Compliance, stark angezweifelt werden und bietet eine Erklärung für den progredienten Verlauf der Erkrankung.

In mehreren Studien konnte demonstriert werden, dass die Inzidenz des BOS bei Patienten nach akuten Abstoßungsreaktionen, besonders bei wiederholten und

schweren Abstoßungsreaktionen, erhöht ist. Auch das späte Auftreten von akuten Abstoßungsreaktionen wurde als Risikofaktor für die Entwicklung eines BOS beschrieben.

Die Tatsache, daß die histologischen Ergebnisse, in typischer Weise zwischen den akuten Abstoßungsereignissen und dem Beginn der Bronchiolitis obliterans, für einen variablen Zeitraum normal sind, spricht dafür, daß die OB nicht lediglich eine Folge direkter Schädigung der Atemwege aufgrund von akuten Abstoßungsreaktionen ist. Die gängigste Erklärung ist die "response to injury"-Hypothese: Als Antwort auf eine Schädigung des Organs werden Reparaturprozesse aktiviert, die über mesenchymale Wachstumsfaktoren wie "transforming growth factor- $\beta$ " (TGF- $\beta$ ) und besonders "platelet-derived growth factor" (PDGF) eine Fibrose bedingen (Hertz et al., 1992; al-Dossari et al., 1995). Die Immunantwort in Form von akuten Abstoßungsreaktionen gegen die Spender-MHC-Antigene ist verbunden mit der Freisetzung von proinflammatorischen Cytokinen und der Expression von Adhäsionsmolekülen, die die Proliferation von Mesenchymzellen und die Synthese der extrazellulären Matrix fördern könnten (Libby, Tanaka, 1994). In Modellversuchen an Ratten konnte gezeigt werden, daß persistierende akute Abstoßungsreaktionen chronischen Abstoßungen vorausgingen. Diese wurden durch die Genexpression von Cytokinen (z.B. Interleukin-2, Interferon- $\gamma$ , und Tumornekrosefaktor- $\alpha$ ) charakterisiert welche vom T-Helfer-Subtyp Th1 exprimiert werden (Matsumara et al., 1995). Th1-Zellen führen zu zytolytischer Aktivität gegen antigenpräsentierende Zellen und üben eine Helferfunktion für IgM-, IgG- und IgA-Synthese bei niedrigen T/B-Zellen-Verhältnissen aus. Interferon- $\gamma$  (IF- $\gamma$ ) und Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) sind in der Lage die Genaktivierung von „platelet-derived growth factor“ (PDGF) hervorzurufen (Shaw et al., 1991; Battegay et al., 1995).

Als weitere potentielle Ursache für die Entwicklung von OB wurden CMV-Infektionen verantwortlich gemacht. Eine Beziehung zwischen dem serologischen CMV-Status oder CMV-Infektionen und der Inzidenz von OB wurde an der Universität von Pittsburgh demonstriert (Keenan et al., 1991). Auch in anderen Institutionen wurde die Koinzidenz von CMV-Infektionen und OB beschrieben (Maurer, 1994; Fend et al., 1990; Maurer et al., 1991). Außerdem wurde ein verspätetes Auftreten von OB unter Ganciclovir-Prophylaxe beobachtet (Duncan et al., 1994; Higenbottam, 1994). Jedoch konnte von anderen Institutionen wie Papworth, Stanford und St. Louis keine Abhängigkeit der

Inzidenz von OB von CMV-Infektionen demonstriert werden (Wallwork, 1994; Girgis et al., 1996; Cooper et al., 1994). In einer späteren Publikation der Papworth-Gruppe, anhand von größeren Fallzahlen, erwies sich die CMV-Infektion als wichtiger Risikofaktor für die Entwicklung des BOS (Heng et al., 1998). Aus zwei Gründen ist die Rolle von CMV Infektionen schwer zu bewerten: Erstens hat sich das Muster des Auftretens der CMV Infektionen mit dem breiten Einsatz von prophylaktischen Maßnahmen verändert und zweitens bestehen variierende Definitionen von Infektion, Krankheit, Pneumonitis in den verschiedenen Institutionen. Jedoch weisen die Daten aus der "präprophylaktischen Zeit" (in der die CMV-Pneumonitis Prävalenz viel grösser war) darauf hin, dass die CMV-Infektion ein wichtiger Risikofaktor für die Entwicklung des BOS ist (Estenne et al., 2002). Als theoretische Ursache für die mögliche Verbindung von CMV-Infektionen und OB gilt, daß eine CMV-Infektion die Anzahl und Aktivität von antigenpräsentierenden Zellen im Transplantat erhöht, die Immunantwort aufreguliert und die spenderspezifische Alloimmunität verstärkt (Griffith et al., 1988; Tourkantonis, Lazaridis, 1983). Während CMV-Infektionen konnte eine Aufregulation von Interferon- $\gamma$  (IF- $\gamma$ ) in BAL-Zellen und zusätzlich eine verstärkte Expression von MHC Klasse II Antigenen gezeigt werden (Zeevi, 1994).

Nur wenige Studien untersuchten die Rolle von Infektionen, wenn man vom Cytomegalievirus absieht. Eine Studie berichtet von einem Zusammenhang zwischen BOS und pulmonalen Infektionen (Heng et al., 1998). Eine zweite Studie befasste sich mit der Assoziation von BOS mit bakteriellen, fungalen und *Pneumocystis carinii* Pneumonien (Girgis et al., 1996). In beiden o.g. Studien war die Signifikanz nur grenzwertig. Eine weitere Studie demonstrierte eine Verbindung zwischen später bakterieller Lungenentzündung (laut Definition in dieser Studie ab 2 Monaten post-op) und OB (Bando et al., 1995) und eine weitere Studie zeigte, dass Infektionen, die nach dem Beginn des BOS auftraten, zu einer schnelleren Progression des BOS sowie schneller zum Tod führten (Heng et al., 1998). Eine Isolierte Untersuchung beschäftigte sich mit dem jahreszeitlichen Auftreten des BOS und konnte ein gehäufte Inzidenz in den Wintermonaten (Januar bis März) feststellen, wobei ein Zusammenhang mit viralen Infektionen suggeriert wird (Hohlfeld et al., 1996). Ein Zusammenhang zwischen der Präsenz von organisierender Pneumonie (BOOP) bei transbronchialer Biopsie (TBB) und OB wurde 1994 in einer kleinen Studie publiziert, wobei 12 Fälle von OB mit 13 Transplantatempfängern ohne OB verglichen wurden (Milne et al., 1994). In Studien

in Stanford und Papworth konnte ebenfalls ein erhöhtes Risiko des BOS in Verbindung mit der BOOP gezeigt werden, jedoch waren die Signifikanzen grenzwertig und weitere Ergebnisse müssen abgewartet werden (Girgis et al., 1996; Heng et al., 1998).

Die Rolle von Spender/Empfänger HLA (human leukocyte antigen) Mismatch wurde in verschiedenen Studien untersucht, wobei die Auswertung dieser Daten nicht zu gesicherten Erkenntnissen führte. So konnte in drei Studien keine Assoziation beim Mismatch von HLA-Loci A,B und DR und der Inzidenz von OB festgestellt werden (Girgis et al., 1996; Hussain et al., 1999; Quantz et al., 2000). Bando und Mitarbeiter berichten von einer sehr schwachen Signifikanz bei dem Zusammenhang von OB und wenigen Mismatches (bezüglich der Loci HLA-DR  $\leq 1$  bzw. HLA-DR + B  $\leq 2$ ) (Bando et al., 1995). Drei Studien fanden eine Abhängigkeit zwischen Mismatch am Locus HLA-A und Beginn des BOS (El-Gamel et al., 1999; Sundaresan et al., 1998; Kroshus et al., 1997). Heng et al. demonstrierten, dass der totale Mismatch an diesem Locus einen signifikanten Risikofaktor darstellt. Ihre Hypothese war, dass sich OB über die Achse von akuten Abstoßungen entwickeln würde (Heng et al., 1998). Eine weitere Studie ist hier von Interesse, die zeigte, dass Mismatch der Loci HLA-B und DR ein Risikofaktor bei der frühen Entstehung von akuten Abstoßungsreaktionen nach Lungentransplantationen ist (Schulman et al., 1998).

Schließlich wurde die Ischämie des Spenderorgans als weitere mögliche Ursache der OB nach Herz-Lungen- und Lungentransplantation diskutiert (Hino et al., 1968; Adoumie et al., 1992). Diese Theorie sieht vor, daß die durch die Ischämie hervorgerufene Verletzung und Nekrose von Epithelzellen zusätzlich zur Durchtrennung der Lymphwege und der chronischen Irritation der Atemwege (aufgrund der gestörten sekretorischen Clearance bedingt durch die Denervation und schlechte mukoziliäre Funktion) über die Freisetzung von Entzündungsmediatoren und Wachstumsfaktoren zum Beginn eines (pathologischen) Heilungsprozesses mit Granulozytenaktivierung und Narbenbildung führt. Um die Rolle der Wachstumsfaktoren weiter zu beleuchten, sei noch bemerkt, daß bei Patienten mit Bronchiolitis obliterans BAL-Proben mit erhöhten Spiegeln von „platelet-derived growth factors“ bestimmt wurden (Hertz et al., 1992). Kürzlich konnte in einer retrospektiven Studie der Ischämie- und Reperfusionsschaden, sowohl in der univarianten als auch

multivariante Analyse, als signifikanter Risikofaktor für die Entwicklung und das Fortschreiten des BOS demonstriert werden (Fiser et al., 2002).

Bei Betrachtung der Literatur zeigt es sich, daß OB alle lungentransplantierten Patienten betrifft und weitgehend unabhängig ist von Alter, Geschlecht und Grunderkrankung des Empfängers. Im ISHLT Register von 2001 zeigten sich jedoch Ischämiezeit, exzessiver Body Mass Index und Empfängeralter bei der multivariante Analyse als signifikante Faktoren bei der Entwicklung von OB nach drei Jahren. Die Autoren des Registers warnen selbst vor einer Überbewertung dieser Ergebnisse und in klinischen, einzel-Center Studien konnte diese auch noch nicht nachvollzogen werden (Hosenpud et al., 2001; Sharples et al., 2002).

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß Alloimmunreaktionen von fundamentaler Bedeutung für die Entstehung der OB sind. Diese Prozesse der Alloimmunantwort können durch die Anwesenheit von persistierenden akuten Abstoßungsreaktionen, bestimmten Infektionen, wie CMV, und anderen Ursachen von Epithelialzellenverletzungen, wie z.B. der Ischämie des Spenderorgans oder der Atemwege, verändert oder beschleunigt werden.

## **7. Immunsuppressive Medikation**

Tacrolimus ist eine effektive Alternative zu Cyclosporin zur Immunsuppression nach Organtransplantationen. Anders als Cyclosporin scheint es effektiv bei der "rescue"-Therapie von refraktären Abstoßungen zu sein, die mit der augmentierten konventionellen immunsuppressiven Medikation nicht zu beherrschen waren (Fung, Starzl, 1995). Darüber hinaus kann es bei Patienten mit einer Unverträglichkeit gegen Cyclosporin eingesetzt werden. Es wurde 1989 in Pittsburgh zum ersten Mal klinisch zur Immunsuppression nach Lebertransplantationen verwendet (Todo et al., 1990). In der Folge wurde es im selben Zentrum nach Nieren-, Leber-, (Todo et al., 1990), Herz- (Armitage et al., 1991a; Armitage et al., 1991b; Armitage et al., 1993; Armitage et al., 1992; Pham et al., 1994) und Lungentransplantationen (Armitage et al., 1993; Griffith et al., 1994; Keenan et al., 1995) eingesetzt. 1994 wurde Tacrolimus in den USA und Europa zur Prophylaxe von Abstoßungsreaktionen nach primärer Lebertransplantation zugelassen.

Die Basis für die Zulassung bildeten zwei große randomisierte Multizenterstudien. In diesen Zulassungsstudien wurden insgesamt 943 lebertransplantierte Patienten (414 Patienten in Europa und 478 Patienten in den USA) je nach Randomisierung, entweder mit Tacrolimus und niedrig dosierten Kortikosteroiden (insgesamt 470 Patienten) oder mit Cyclosporin (insgesamt 473 Patienten) über 12 Monate primär immunsupprimiert. Tacrolimus war sowohl als primäre immunsuppressive Therapie indiziert, als auch zur Behandlung von therapieresistenten, manifesten Abstoßungsreaktionen. Beide Studien ergaben, daß die Inzidenz von akuten, refraktären akuten und chronischen Abstoßungsreaktionen bei den Patienten, die mit Tacrolimus und niedrig dosierten Kortikosteroiden therapiert wurden, signifikant niedriger war. Andererseits jedoch lag die Anzahl von Infektionen und Nebenwirkungen in der Tacrolimus-Gruppe höher (The U.S.Multicenter FK506 Liver Study Group, 1994; European FK506 Multicentre Liver Study Group, 1994).

Aufgrund der guten Erfahrungen nach Nieren- und Lebertransplantationen, wurde Tacrolimus zur Konversionstherapie ("rescue"-Therapie) und als primäres Immunsuppressivum auch nach Lungentransplantationen eingesetzt. Nonn und Kollegen berichteten von einer signifikanten Senkung der Abstoßungsrate nach Lungentransplantationen an Mukoviszidosepatienten (Nonn et al., 1997). Keenan und Mitarbeiter publizierten 1995 die Ergebnisse einer prospektiven Studie zum Vergleich der immunsuppressiven Wirkung von Tacrolimus und Cyclosporin, die zeigte, daß unter Tacrolimustherapie die Inzidenz von akuten Abstoßungsreaktionen (nicht-signifikant) und des Bronchiolitis obliterans Syndroms (signifikant) gesenkt werden konnte. Die Inzidenz von Bronchiolitis obliterans war mit Tacrolimus und Azathioprin signifikant erniedrigt im Vergleich zu Cyclosporin und Azathioprin (21,7% resp.38,0%;  $p=0,025$ ). Der Zeitpunkt des mittleren Auftretens von OB erfolgte in der Tacrolimus-Gruppe etwas später als in der Cyclosporin-Gruppe ( $350 \pm 45$  Tage vs.  $311 \pm 36$  Tage,  $p=n.s.$ ) (Keenan et al., 1995; Reichenspurner, 2005).

Bei einer follow-up Analyse der o.g. Daten konnten, bei dem Vergleich von Tacrolimus und Cyclosporin A, bezüglich der Inzidenz von Bronchiolitis obliterans keine Signifikanzlevel mehr erreicht werden. Es zeigte sich aber, daß die Entwicklung des BOS mit Tacrolimus tendenziell verzögert werden konnte. Der

Beginn des BOS erfolgte nach  $671 \pm 147$  (Tacrolimus) vs.  $477 \pm 102$  Tagen (Cyclosporin) (Keenan et al., 1998). In einer Studie von Horning und Mitarbeitern konnte bei 14 Patienten mit chronisch-persistierenden akuten Abstoßungsreaktionen durch die Umstellung der immunsuppressiven Therapie von Cyclosporin auf Tacrolimus eine deutliche Senkung der Inzidenz von Abstoßungsreaktionen erreicht werden (Horning et al., 1998). Onsager et al. berichteten, daß 9 von 15 Patienten, deren primäre Immunsuppression aufgrund von refraktären Abstoßungsreaktionen von Cyclosporin auf Tacrolimus konvertiert wurde, danach frei von Abstoßungen waren und die progressive Senkung des FEV1 gestoppt werden konnte (Onsager et al., 1999).

Weiter zeigte sich Tacrolimus, im Vergleich mit Cyclosporin, als vorteilhafter bei der Immunsuppression von Patienten, bei denen sich bereits ein BOS nach der Transplantation entwickelt hatte. Die mittlere Rate der FEV1-Reduktion konnte mit Tacrolimus signifikant gesenkt werden (5,3% vs 1,1%;  $p = 0,002$ ). Die forcierte Vitalkapazität verbesserte sich nicht signifikant. Sieben von 12 Patienten mit progredientem BOS zeigten nach dem Wechsel der Immunsuppression von Cyclosporin auf Tacrolimus keine Verschlechterung der FEV1 um mehr als 10%. Bei fünf Patienten schritt das BOS trotz dem Wechsel der Medikation fort, d.h. es trat eine Reduktion des FEV1 um mehr als 10% auf (Kesten et al., 1997).

In unserer Studie wurde bei vier Patienten (15%) ein Wechsel der primären Immunsuppression von Cyclosporin auf Tacrolimus durchgeführt, um persistierende, resistente Abstoßungsreaktionen zu behandeln. Bei zwei der Patienten bestand zusätzlich ein BOS (8,3%). Bei drei Patienten verlief der Wechsel erfolgreich und es traten bei diesen Patienten in der follow-up Zeit keine akuten Abstoßungsreaktionen mehr auf. Bei einem Patienten stabilisierte sich zusätzlich der FEV1-Wert. Die Beobachtungszeiten dieser Patienten betragen zum Ende der Studie 569, 455 und 516 Tage. Beim vierten Patienten konnte das fortschreiten des BOS zumindest verzögert werden. Er entwickelte ein langsam progredientes Bronchiolitis obliterans Syndrom Grad 3 und verstarb 8 Monate nach dem Wechsel auf Tacrolimus. Diese Ergebnisse stehen zunächst in Analogie zu den o.g. Studien von Onsager et al. und Horning et al. Man muss aber bedenken, dass die follow-up Zeiten zum Ende dieser

Studie noch zu kurz waren und eventl. zu einem späteren Zeitpunkt erneut bewertet werden müssen.

## **8. Unerwünschte Wirkungen der Immunsuppression**

Laut dem ISHLT-Register von 2005 (Daten der Jahre 1994 bis 06/2004) entwickeln 50,5 % der Patienten innerhalb des ersten Jahres nach der Lungentransplantation einen medikamentös behandelten arteriellen Hypertonus, bei 24,8 % der Patienten besteht eine renale Dysfunktion und bei 8,6 % sind die Serumkreatininwerte > 2,5 mg/dl erhöht. Ausserdem kommt es bei 15,3 % der lungentransplantierten Patienten nach einem Jahr zu einer medikamentös therapierten Hyperlipidämie. Einen Diabetes mellitus entwickeln laut den Daten des ISHLT-Registers 18,3% der Patienten (Trulock et al., 2003).

Erhöhte Serumkreatininwerte im Vergleich zu den Werten vor der Transplantation sind häufig die ersten Hinweise auf eine gestörte Nierenfunktion bei der Immunsuppression mit Tacrolimus bzw. Cyclosporin. In einer prospektiven, randomisierten Studie von Keenan und Mitarbeitern zum Vergleich der Immunsuppression nach Lungentransplantation betragen die durchschnittlichen Serumkreatininwerte nach einem Jahr  $1,95 \pm 0,72$  mg/dl in der Tacrolimus-Gruppe (n=66) und  $1,68 \pm 0,6$  mg/dl unter Cyclosporin-Medikation (n=67) (Keenan et al., 1995). In den europäischen und US-amerikanischen Pilotstudien nach Herztransplantation konnte kein signifikanter Unterschied bezüglich der Nierenfunktion mit Tac bzw. CyA nach einem Jahr follow-up nachgewiesen werden (Reichart et al., 1998; Taylor et al., 1999). In einer randomisierten Einzel-center Studie waren die Serumkreatininwerte mit Tac bzw. CyA nach 3 Jahren follow-up nach Herztransplantation vergleichbar, wobei die Patienten mit Tac weniger diuretische Medikamente benötigten (Meiser et al., 1998; Groetzner et al., 2001). Eine retrospektive Untersuchung unserer Studiengruppe zur Immunsuppression mit Cyclosporin kombiniert mit Azathioprin vs. Tacrolimus kombiniert mit Azathioprin vs. Tacrolimus kombiniert mit Mycophenolate Mofetil ergab eine 1-Jahres-Prävalenz für Niereninsuffizienz (Kreatinin >2,0 mg/dl) von 18%, 13% sowie 0%, wobei kein Patient eine Hämofiltration oder Dialyse benötigte (Reichenspurner et al., 1999).

Unsere Patienten zeigten bezüglich der Prävalenz der Komorbidität im Vergleich zu den o.g. Studien einen ähnlichen Verlauf. Die Pittsburgh-Studie unterscheidet sich in der Dosierung der immunsuppressiven Medikamente und den angestrebten Medikamentenspiegel (Keenan et al., 1995). Umso mehr trifft das auf die Bewertung von Registerdaten zu. In unserer Studie benötigte keiner der Patienten aus beiden Gruppen nach dem 30. Tag post operationem eine Hämofiltration oder Dialyse und bei keinem kam es zu Serumkreatininwerten  $> 2$  mg/dl innerhalb des ersten Jahres. Die Serumkreatininwerte betrugen mit CyA  $1,31 \pm 0,27$  mg/dl und mit Tac  $1,22 \pm 0,33$  ( $p=0,779$ ; n.s.) nach 12 Monaten follow-up. Auch im 3-Jahres follow-up gab es keinen signifikanten Unterschied bei den Serumkreatininwerten in den beiden Gruppen (CyA  $1,39 \pm 0,36$  mg/dl vs. Tac  $1,56 \pm 0,58$ ;  $p=n.s.$ ) (Zuckermann et al., 2003). Sieben Patienten aus der CyA-Gruppe (29 %) und drei Patienten (12 %) aus der Tac-Gruppe wurden nach 12 Monaten mit antihypertensiven Medikamenten (ACE-Inhibitoren,  $\beta$ -Rezeptorenblocker) therapiert ( $p=0,123$ ; n.s.). Im 3-Jahres follow-up unserer Daten bestand jedoch eine signifikant höhere Inzidenz von arteriellem Hypertonus in der CyA-Gruppe (CyA 46% vs. Tac 13,5%,  $p<0,05$ ) (Zuckermann et al., 2003). Zwölf Patienten (50%) der Cyclosporin-Gruppe und 8 Patienten (30%) in der Tacrolimus-Gruppe erhielten im ersten Jahr Statine zur Behandlung einer Hyperlipidämie ( $p=0,903$ ; n.s.).

In der Tacrolimus-Gruppe entwickelten 3 Patienten (11,5 %) einen Diabetes mellitus post transplantationem. In der Cyclosporin-Gruppe kam es zu keinem Fall von neu aufgetretenem Diabetes mellitus innerhalb der ersten Jahres nach der Transplantation ( $p=0,089$ ; n.s.). Dieser Trend erreicht nach 36 Monaten follow-up sogar eine statistische Signifikanz (Tac 22% vs. CyA 0%,  $p<0,05$ ) (Zuckermann et al., 2003). Die Beobachtungen bezüglich des Diabetes mellitus wurden bereits früher von unserer Studiengruppe beschrieben: nach einem Jahr nach Lungentransplantation kam es unter der primären Immunsuppression mit Tac signifikant häufiger zu Störungen des Glucosestoffwechsels als unter der Therapie mit CyA (26,7% vs. 14,7%,  $p=0,039$ ), obgleich der Anteil von insulinbedürftigem Diabetes mellitus etwa gleich blieb (10%) (Reichenspurner et al., 1999). Ähnliches wurde auch nach Leber- und Nierentransplantationen beschrieben, wobei der diabetogene Effekt von Tac dosisabhängig und reversibel war (The U.S.Multicenter FK506 Liver Study Group, 1994; European FK506 Multicentre Liver Study Group, 1994; Golling et al., 1996; Neylan, and the FK 506 Kidney Tranplant Study Group,

1998; Pirsch et al., 1997). Außerdem könnte der diabetogene Effekt von Tacrolimus und im geringeren Ausmass von Cyclosporin durch die gleichzeitige Gabe von Steroiden verstärkt werden (Jindal et al., 1997). Schließlich zeigt sich in den Registerdaten der ISHLT von 2005 bei dem Vergleich der Daten der Jahre 1994 bis 1999 vs. 1999 bis 2003 eine Zunahme der Inzidenz von Diabetes mellitus von 18,3 % (n=3564) auf 27,1 % (n=2885) (Trulock et al., 2005). Dies widerspiegelt möglicherweise den in den letzten Jahren weltweit wachsenden Anteil der mit Tacrolimus behandelten Patienten und daher sollte das unterschiedliche Risikoprofil im Bezug auf Diabetes mellitus Beachtung finden.

## **9. Schlußfolgerung und Ausblick**

In dieser Studie zeigte sich Tac in Kombination mit Mycophenolate Mofetil und Kortikosteroiden als potentes Immunsuppressivum und als wirksame Alternative zu Cyclosporin A in Kombination mit Mycophenolate Mofetil und Kortikosteroiden nach Lungentransplantationen. Tacrolimus demonstrierte eine äquivalente wenn nicht gar überlegene Wirksamkeit zur Prophylaxe von akuten Abstoßungsreaktionen. Die Inzidenz von akuten Abstoßungsreaktionen im Beobachtungszeitraum war unter Tac-Immunsuppression pro 100 Patiententage signifikant niedriger als in der CyA-Gruppe ( $p < 0,05$ ). Die Freiheit von erster und wiederholter AR nach 6 bzw. 12 Monaten war in der Tac-Gruppe tendenziell größer als in der CyA-Gruppe ( $p = n.s.$ ).

Tacrolimus zeigte Vorteile als "Rescuetherapie" von persistierenden, therapieresistenten AR. Nach dem Wechsel der Immunsuppression von CyA auf Tac traten bei drei Patienten keine AR mehr in der follow-up Periode auf. Bei einem Patienten konnte die Progredienz des BOS gebremst werden. Umgekehrt musste bei keinem Patienten die primäre Immunsuppression von Tac auf CyA konvertiert werden. Der erfolgreiche Einsatz von Tacrolimus als "Rescuetherapie" bei akuten und chronischen (BOS) Abstoßungsreaktionen wurde in Single- und Multicenter-Studien demonstriert (Sarahrudi K. et al., 2004; Klepetko et al., 2002; Kesten et al., 1997).

In der Tac-Gruppe kam es nicht-signifikant häufiger zu Aspergillusinfektionen als in der Vergleichsgruppe. Es konnte bislang kein signifikanter Unterschied bezüglich der Inzidenz von bakteriellen, viralen und fungalen Infektionen bei der primären

Immunsuppression mit Tac im Vergleich zu CyA demonstriert werden (Reichenspurner et al., 1999; Treede et al., 2001). In einer prospektiven, randomisierten Studie wurde auf gehäufte fungale Infektionen unter der Immunsuppression mit Tac hingewiesen (Keenan et al., 1995). Die frühzeitige Diagnose und Therapie von fungalen Infektionen ist für den Krankheitsverlauf und die Prognose entscheidend.

Drei Patienten (11,5%) entwickelten einen Diabetes mellitus unter der Immunsuppression mit Tac innerhalb des ersten Jahres nach der Lungentransplantation. In allen drei Fällen erfolgte eine medikamentöse Therapie. In der CyA-Gruppe gab es keinen Fall von Diabetes mellitus. Im 3-Jahres follow-up unserer Studiengruppe bei einem nicht identischen Patientenkollektiv beträgt die Inzidenz von "new onset" Diabetes mellitus (definiert über die Notwendigkeit einer anti-diabetischen Medikation >3 Monate) im Vergleich von Tac vs. CyA (+MMF und Steroiden) 22% resp. 0% ( $p < 0,05$  nach 3 Jahren) (Zuckermann et al., 2003).

In einer retrospektiven Untersuchung konnte bereits zuvor gezeigt werden, daß die Anzahl von Patienten mit Störungen des Glucosemetabolismus nach Lungentransplantation und der primären Immunsuppression mit Tac signifikant größer war als mit CyA (26,7% vs. 14,7 %,  $p = 0,049$ , 1 Jahr follow-up) (Reichenspurner et al., 1999). Es sollten regelmäßige Untersuchungen des Blutglucosespiegels erfolgen um die frühzeitige Diagnose und Therapie eines Diabetes mellitus zu ermöglichen.

Infolge der geschilderten Entwicklungen stellt die Lungentransplantation heute für die bedeutende Zahl von Patienten mit chronischen Lungenerkrankungen im Terminalstadium eine effektive Behandlungsmöglichkeit dar. Es zeigt sich in den letzten Jahren weltweit ein steigender Anteil von Patienten, die mit Tacrolimus behandelt werden (auch für andere Indikationen). Das unterschiedliche Risikoprofil im Bezug auf die unerwünschten Wirkungen im Vergleich zu Cyclosporin ermöglicht die Optimierung der Immunsuppression nach Lungentransplantation (Reichenspurner, 2005).

Ermutigt durch unsere Ergebnisse nach einem bzw. drei Jahren follow-up (Treede et al., 2001; Zuckermann et al., 2003; Zuckermann et al., 2003), wurde basierend auf den Erfahrungen dieser Studie eine große internationale, prospektive, randomisierte

Multicenter Studie zum Vergleich der Immunsuppression mit Tacrolimus bzw. Cyclosporin (jeweils in Kombination mit MMF und Steroiden) gestartet. Die Ergebnisse der zweiten Interimsanalyse (n=274) nach einem Jahr follow-up weisen auf eine signifikant niedrigere Inzidenz ( $p=0,0324$ ) von akuten Abstoßungsreaktionen und eine tendenziell niedrigere Inzidenz von chronischen Abstoßungsreaktionen (BOS,  $p=0,23$ ; n.s.) unter der primären immunsuppressiven Therapie mit Tacrolimus hin (Reichenspurner et al., 2003). Damit werden unsere Daten in Bezug auf Überleben, akute und chronische Abstoßungsreaktionen, sowie Infektionen und Komplikationen nach einem Jahr nach Lungentransplantation weitgehend bestätigt. Tacrolimus und Cyclosporin zeigten eine vergleichbar hohe immunsuppressive Potenz, wobei Tacrolimus eine signifikant niedrigere Inzidenz ( $p=0,0324$ ) von akuten Abstoßungsreaktionen nach einem Jahr aufweist. In beiden Gruppen zeigte sich in unserer prospektiven, randomisierten Multicenter-Folgestudie ein hervorragendes Ein-Jahres-Überleben (Tac. vs. CyA entspr. 89,1% vs. 90,6%,  $p=n.s.$ ) ohne signifikanten Unterschied in den beiden Gruppen. Bei chronischen Abstoßungsreaktionen und bei Art und Inzidenz von Infektionen nach einem Jahr waren die Ergebnisse ähnlich ermutigend (Reichenspurner et al., 2003). Die Auswertung der Langzeit-follow-up Daten wird zeigen, ob dieser Trend auch zu einem verbesserten mittel- und langfristigen Überleben mit Tacrolimus nach Lungentransplantation führen wird.

## G Zusammenfassung

In dieser offenen, prospektiven, randomisierten Studie wurden zwei Patientenkollektive verglichen, die vom September 1997 bis April 1999 an den Kliniken der LMU München und dem Allgemeinen Krankenhaus Wien lungentransplantiert wurden, wobei die Patienten zur primären immunsuppressiven Medikation entweder Cyclosporin A (CyA) (n=24) oder Tacrolimus (Tac) (n=26) jeweils in Kombination mit Mycophenolate Mofetil und Steroiden erhielten. Eine Induktionstherapie mit antithymozyten Globulin (RATG) wurde durchgeführt. Es ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich Alter, Geschlecht, CMV Mismatch (Spender pos./Empfänger neg.), Grunderkrankung und Transplantationsart. Die primären Endpunkte der Studie waren die Inzidenz und Zahl von akuten Abstoßungsreaktionen (AR) und Bronchiolitis obliterans Syndrom (BOS) als Form der chronischen Abstoßung. Die sekundären Endpunkte der Studie waren Patienten überleben nach einem Jahr nach Lungentransplantation und Häufigkeit von Infektionen und unerwünschte Wirkungen. Die Überlebensraten nach einem Jahr betrugen mit CyA 79% und mit Tac 69%. Die Freiheit von AR nach 6 bzw. 12 Monaten war in der Tac-Gruppe nicht-signifikant größer als in der CyA-Gruppe (57,7% und 50% resp. 45,8% und 33,3%). Die Inzidenz von AR im Beobachtungszeitraum war unter Tac mit  $0,23 \pm 0,3$  pro 100 Patiententage signifikant niedriger als mit CyA ( $0,43 \pm 0,54$ ,  $p < 0,05$ ). In der CyA-Gruppe entwickelten zwei Patienten ein BOS (Grad 1); in der Tac-Gruppe gab es zwei Fälle mit BOS (Grad 1 und Grad 3). Die Häufigkeit von Infektionen pro 100 Patiententage betrug in der CyA-Gruppe  $0,23 \pm 0,38$  für bakterielle,  $0,11 \pm 0,16$  für virale und  $0,03 \pm 0,13$  für fungale Infektionen. Mit Tac als primäres Immunsuppressivum ergab sich eine Häufigkeit pro 100 Patiententage von  $0,24 \pm 0,40$  für bakterielle,  $0,13 \pm 0,19$  für virale und  $0,08 \pm 0,19$  für fungale Infektionen. Die Ergebnisse sind ein Beleg für die gute immunsuppressive Wirksamkeit beider Medikamente. Tacrolimus zeichnete sich in dieser klinischen Studie durch eine stärkere immunsuppressive Potenz aus. Andererseits wurde jedoch eine höhere Inzidenz von fungalen Infektionen und Diabetes mellitus in dieser Gruppe beobachtet. Der mittlere Zeitpunkt des Auftretens des BOS liegt zwischen 16 und 20 Monaten post transplantationem. Folglich sind die Daten bezüglich dieses Parameters nach einer entsprechenden follow-up-Zeit von 3 Jahren erneut bewertet worden.

## H Bibliographie

1. Adoumie R, Serrick C, Giaid A, Shennib H (1992) Early cellular events in the lung allograft. *Ann Thorac Surg* 54:1071-1076.
2. al-Dossari GA, Jessurun J, Bolman RM, Kshetry VR, King MB, Murray JJ, Hertz MI (1995) Pathogenesis of obliterative bronchiolitis. Possible roles of platelet-derived growth factor and basic fibroblast growth factor. *Transplantation* 59:143-145.
3. Alak AM (1997) Measurement of tacrolimus (FK506) and its metabolites: a review of assay development and application in therapeutic drug monitoring and pharmacokinetic studies [see comments]. *Ther Drug Monit* 19:338-351.
4. Allison AC, Eugui EM (1996) Purine metabolism and immunosuppressive effects of mycophenolate mofetil (MMF). *Clin Transplant* 10:77-84.
5. Allison AC, Eugui EM (2000) Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action [In Process Citation]. *Immunopharmacology* 47:85-118.
6. Armitage JM, Fricker FJ, Del Nido P, Cipriani L, Starzl TE (1991a) The clinical trial of FK 506 as primary and rescue immunosuppression in pediatric cardiac transplantation. *Transplant Proc* 23:3058-3060.
7. Armitage JM, Fricker FJ, Del Nido P, Starzl TE, Hardesty RL, Griffith BP (1993) A decade (1982 to 1992) of pediatric cardiac transplantation and the impact of FK 506 immunosuppression. *J Thorac Cardiovasc Surg* 105:464-472.
8. Armitage JM, Kormos RL, Fung J, Starzl TE (1991b) The clinical trial of FK 506 as primary and rescue immunosuppression in adult cardiac transplantation. *Transplant Proc* 23:3054-3057.
9. Armitage JM, Kormos RL, Morita S, Fung J, Marrone GC, Hardesty RL, Griffith BP, Starzl TE (1992) Clinical trial of FK 506 immunosuppression in adult cardiac transplantation. *Ann Thorac Surg* 54:205-210.
10. Arnow PM, Andersen RL, Mainous PD, Smith EJ (1978) Pulmonary aspergillosis during hospital renovation. *Am Rev Respir Dis* 118:49-53.
11. Bailey TC, Trulock EP, Ettinger NA, Storch GA, Cooper JD, Powderly WG (1992) Failure of prophylactic ganciclovir to prevent cytomegalovirus disease in recipients of lung transplants. *J Infect Dis* 165:548-552.
12. Bando K, Paradis IL, Komatsu K, Konishi H, Matsushima M, Keenan RJ, Hardesty RL, Armitage JM, Griffith BP (1995) Analysis of time-dependent risks for infection, rejection, and death after pulmonary transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 109:49-57.

13. Bando K, Paradis IL, Similo S, Konishi H, Komatsu K, Zullo TG, Yousem SA, Close JM, Zeevi A, Duquesnoy RJ (1995) Obliterative bronchiolitis after lung and heart-lung transplantation. An analysis of risk factors and management. *J Thorac Cardiovasc Surg* 110:4-13.
14. Battegay EJ, Raines EW, Colbert T, Ross R (1995) TNF-alpha stimulation of fibroblast proliferation. Dependence on platelet-derived growth factor (PDGF) secretion and alteration of PDGF receptor expression. *J Immunol* 154:6040-6047.
15. Berry GJ, Brunt EM, Chamberlain D, Hruban RH, Sibley RK, Stewart S, Tazelaar HD (1990) A working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart and lung rejection: Lung Rejection Study Group. The International Society for Heart Transplantation. *J Heart Transplant* 9:593-601.
16. Billaud EM, Guillemain R, Tacco F, Chevalier P (1998) Evidence for a pharmacokinetic interaction between itraconazole and tacrolimus in organ transplant patients [letter]. *Br J Clin Pharmacol* 46:271-272.
17. Bittmann I, Weiss M (1995) Pathologische Veränderungen der transplantierten Lunge. In: *Lungentransplantationen* (Reichart B ed), Bern: Verlag Hans Huber.
18. Blumenstock DA, Lewis C (1993) The first transplantation of the lung in a human revisited. *Ann Thorac Surg* 56:1423-1424.
19. Borel JF, Kis ZL (1991) The discovery and development of cyclosporine (Sandimmune). *Transplant Proc* 23:1867-1874.
20. Briegel J, Groh J, Haller M (1998) Perioperative management of patients undergoing lung transplantation. *Curr Opin in Anaesthesiology* 11 (1):51-59.
21. Cahill BC, Hibbs JR, Savik K, Juni BA, Dosland BM, Edin-Stibbe C, Hertz MI (1997) Aspergillus airway colonization and invasive disease after lung transplantation. *Chest* 112:1160-1164.
22. Chaparro C, Kesten S (1997) Infections in lung transplant recipients. *Clin Chest Med* 18:339-351.
23. Chaparro C, Maurer JR, Chamberlain D, De Hoyos A, Winton T, Westney G, Kesten S (1994) Causes of death in lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 13:758-766.
24. Christians U, Schmidt G, Bader A, et al. (1996) Identification of drugs inhibiting the in vitro metabolism of tacrolimus by human liver microsomes. *Br J Clin Pharmacol* 41:187-190.
25. Clipstone NA, Fiorentino DF, Crabtree GR (1994) Molecular analysis of the interaction of calcineurin with drug-immunophilin complexes. *J Biol Chem* 269:26431-26437.

26. Cooper DK, Novitzky D, Schlegel V, Muchmore JS, Cucchiara A, Zuhdi N (1991) Successful management of symptomatic cytomegalovirus disease with ganciclovir after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 10:656-662.
27. Cooper JD, Billingham M, Egan T, Hertz MI, Higenbottam T, Lynch J, Mauer J, Paradis I, Patterson GA, Smith C (1993) A working formulation for the standardization of nomenclature and for clinical staging of chronic dysfunction in lung allografts. International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 12:713-716.
28. Cooper JD, Ginsberg RJ, Goldberg M, et al. (1986) Unilateral lung transplantation for pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 324:1140-1145.
29. Cooper JD, Patterson GA, Trulock EP, and the Washington University lung transplantation group (1994) Results of single and bilateral lung transplantation in 131 consecutive recipients. *J Thorac Cardiovasc Surg* 107:460-471.
30. Dalton ML (1995) The first lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 60:1437-1438.
31. Davidson TM, Murphy C, Mitchell M, Smith C, Light M (1995) Management of chronic sinusitis in cystic fibrosis. *Laryngoscope* 105:354-358.
32. De Bell LS (1997) *Mosby's Complete Drug Reference*. St. Louis (Mo): Mosby.
33. deMattos AM, Olyaei AJ, Bennett WM (1997) Pharmacology of immunosuppressive medications used in renal diseases and transplantation. *Am J Kidney Dis* 28:631-667.
34. Derom F, Barbier F, Ringoir S, Versieck J, Rolly G, Berzsenyi G, Vermeire P, Vrints L (1971) Ten-month survival after lung homotransplantation in man. *J Thorac Cardiovasc Surg* 61:835-846.
35. Diasio RB, LoBuglio AF (1996) Immunomodulators: immunosuppressive agents and immunostimulants. In: Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics (Anonymouspp 1291-1308.
36. Dienemann H, Reichenspurner H, Forst H, Reichart B (1994) Isolierte Lungentransplantation: Analyse von 17 konsekutiven Tranaplantationen. *DMW* 119:451-457.
37. Drew RH, Dodds AE, Benjamin DK, ane DR, Imer SM, rfect JR (2004) Comparative safety of amphotericin B lipid complex and amphotericin B deoxycholate as aerosolized antifungal prophylaxis in lung-transplant recipients. *Transplantation* 77 (2):232-237.
38. Duncan AJ, Dummer JS, Paradis IL, Dauber JH, Yousem SA, Zenati MA, Kormos RL, Griffith BP (1991) Cytomegalovirus infection and survival in lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 10:638-644.

39. Duncan SR, Grgurich WF, Iacono AT, Burckart GJ, Yousem SA, Paradis IL, Williams PA, Johnson BA, Griffith BP (1994) A comparison of ganciclovir and acyclovir to prevent cytomegalovirus after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 150:146-152.
40. Dunn DL, Gillingham KJ, Kramer MA, Schmidt WJ, Erice A, Balfour HHJ, Gores PF, Gruessner RW, Matas AJ, Payne WD (1994) A prospective randomized study of acyclovir versus ganciclovir plus human immune globulin prophylaxis of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation. *Transplantation* 57:876-884.
41. Egan JJ, Lomax J, Barber L, Lok SS, Martyszczuk R, Yonan N, Fox A, Deiraniya AK, Turner AJ, Woodcock AA (1998) Preemptive treatment for the prevention of cytomegalovirus disease: in lung and heart transplant recipients. *Transplantation* 65:747-752.
42. El-Gamel A, Sim E, Hasleton P, et al. (1999) Transforming Growth Factor Beta (TGF-beta) and Obliterative Bronchiolitis Following Pulmonary Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 18:828-837.
43. Epinette WW, Parker CM, Jones EL, Greist MC (1987) Mycophenolic acid for psoriasis. A review of pharmacology, long-term efficacy, and safety. *J Am Acad Dermatol* 17:962-971.
44. Estenne M, Maurer J, Boehler A, Egan JJ, Frost A, Hertz M, Mallory JGB, Snell GI, Yousem S (2002) Bronchiolitis Obliterans 2001: An Update of the Diagnostic Criteria. *J Heart Lung Transplant* 21:297-310.
45. European FK506 Multicentre Liver Study Group (1994) Randomised trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporin in prevention of liver allograft rejection. European FK506 Multicentre Liver Study Group [see comments]. *Lancet* 344:423-428.
46. Faulds D, Goa KL, Benfield P (1993) Cyclosporin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in immunoregulatory disorders [published erratum appears in *Drugs* 1993 Sep;46(3):377]. *Drugs* 45:953-1040.
47. Fend F, Prior C, Margreiter R, Mikuz G (1990) Cytomegalovirus pneumonitis in heart-lung transplant recipients: histopathology and clinicopathologic considerations. *Hum Pathol* 21:918-926.
48. Fiser SM, Tribble CG, Long SM, Kaza AK, Kern JA, Jones DR, Robbins MK, Kron IL (2002) Ischemia-Reperfusion Injury after Lung Transplantation Increases Risk of Late Bronchiolitis Obliterans Syndrome. *Ann Thorac Surg* 73:1041-1047.
49. Fishman JA, Rubin RH (1998) Infection in organ-transplant recipients [see comments]. *N Engl J Med* 338:1741-1751.
50. Franklin TJ, Cook JM (1969) The inhibition of nucleic acid synthesis by mycophenolic acid. *Biochem J* 113:515-524.

51. Fulton B, Markham A (1996) Mycophenolate mofetil. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and clinical efficacy in renal transplantation. *Drugs* 51:278-298.
52. Fung JJ, Starzl TE (1995) FK506 in solid organ transplantation. *Ther Drug Monit* 17:592-595.
53. Girgis RE, Tu I, Berry GJ, Reichenspurner H, Valentine VG, Conte JV, Ting A, Johnstone I, Miller J, Robbins RC, Reitz BA, Theodore J (1996) Risk factors for the development of obliterative bronchiolitis after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 15:1200-1208.
54. Golling M, Lehmann T, Senniger N, Herfarth C, Otto G (1996) Tacrolimus reduction improves glucose metabolism and insulin secretion following liver transplantation. *Transplant Proc JID - 0243532* 28:3180-3182.
55. Graham RM (1994) Cyclosporin: mechanism of action and toxicity. *Cleve Clin J Med* 61:308-313.
56. Griffith BP, Bando K, Hardesty RL, Armitage JM, Keenan RJ, Pham SM, Paradis IL, Yousem SA, Komatsu K, Konishi H (1994) A prospective randomized trial of FK506 versus cyclosporine after human pulmonary transplantation. *Transplantation* 57:848-851.
57. Griffith BP, Magee MJ, Gonzales IF, Houl R, Armitage JM, Hardesty RL, Hattler BG, Ferson PF, Landreneau RJ, Keenan RJ (1994) Anastomotic pitfalls in lung transplantation. *J Cardiovasc Surg* 107:743-754.
58. Griffith BP, Paradis IL, Zeevi A, Rabinowich H, Yousem SA, Duquesnoy RJ, Dauber JH, Hardesty RL (1988) Immunologically mediated disease of the airways after pulmonary transplantation. *Ann Surg* 208:371-378.
59. Groetzner J, Meiser B, Schirmer J (2001) Tacrolimus or cyclosporine for immunosuppression after cardiac transplantation: which treatment reveals more side-effects during long-term follow-up? *Transplant Proc JID - 0243532* 33:1461-1464.
60. Grossi P, Farina C, Fiocchi R, Dalla GD (2000) Prevalence and outcome of invasive fungal infections in 1,963 thoracic organ transplant recipients: a multicenter retrospective study. Italian Study Group of Fungal Infections in Thoracic Organ Transplant Recipients. *Transplantation* 70:112-116.
61. Guillemain R, Lavarde V, Amrein C, Chevalier P, Guinvarc'h A, Glotz D (1995) Invasive aspergillosis after transplantation. *Transplant Proc* 27:1307-1309.
62. Gutierrez CA, Chaparro C, Krajden M, Winton T, Kesten S (1998) Cytomegalovirus viremia in lung transplant recipients receiving ganciclovir and immune globulin. *Chest* 113:924-932.

63. H.Treede HRBMMFKHFVCVJBaBR (2001) Incidence and Spectrum of Infections in Lung Transplanted Patients: Comparison of Four Different Immunosuppressive Protocols. *Transplantation Proceedings* 33:1620-1621.
64. Hammer C, Klanke D, Lersch C, Dirschedl P, Kemkes BM, Gokel M, Reichenspurner H, Reichart B (1989) Cytoimmunologic monitoring (CIM) for differentiation between cardiac rejection and viral, bacterial, or fungal infection: its specificity and sensitivity. *Transplant Proc* 21:3631-3633.
65. Hardin CA, Kittle CF (1954) Experience with transplantation of the lung. *Science* 87:
66. Heng D, Sharples L, McNeil K, Stewart S, Wreghitt T, Wallwork J (1998) Bronchiolitis obliterans syndrome: incidence, natural history, prognosis, and risk factors. *J Heart Lung Transplant* 17:1255-1263.
67. Henry ML (1999) Cyclosporine and tacrolimus (FK506): a comparison of efficacy and safety profiles. *Clin Transplant* 13:209-220.
68. Hertz MI, Henke CA, Nakhleh RE, Harmon KR, Marinelli WA, Fox JM, Kubo SH, Shumway SJ, Bolman RM, Bitterman PB (1992) Obliterative bronchiolitis after lung transplantation: a fibroproliferative disorder associated with platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:10385-10389.
69. Hibberd PL, Rubin RH (1994) Clinical aspects of fungal infection in organ transplant recipients. *Clin Infect Dis* 19 Suppl 1:S33-S40
70. Higenbottam T (1994) Heart-lung transplantation and lung transplantation - the challenge of obliterative bronchiolitis. In: *Organ transplantation* (Paul LC, Solez K eds), pp 247-260. New York: Marcel Dekker.
71. Higenbottam T, Stewart S, Penketh A, Wallwork J (1988) Transbronchial lung biopsy for the diagnosis of rejection in heart-lung transplant patients. *Transplantation* 46:532-539.
72. Hino K, Grogan JB, Hardy JD (1968) Viability of stored lungs. *Transplantation* 6:25-32.
73. Hohlfeld J, Niedermeyer J, Hamm H, Schafers HJ, Wagner TO, Fabel H (1996) Seasonal onset of bronchiolitis obliterans syndrome in lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 15:888-894.
74. Hopkins CC, Weber DJ, Rubin RH (1989) Invasive aspergillus infection: possible non-ward common source within the hospital environment. *J Hosp Infect* 13:19-25.
75. Horning NR, Lynch JP, Sundaresan SR, Patterson GA, Trulock EP (1998) Tacrolimus therapy for persistent or recurrent acute rejection after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 17:761-767.

76. Hosenpud JD (1992) The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: ninth official report -1992. *J Heart Lung Transplant* 11:599-606.
77. Hosenpud JD, Bennett LE, Keck BM, Boucek MM, Novick RJ (2001) The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: eighteenth official report-2001. *J Heart Lung Transplant* 20:805-815.
78. Hosenpud JD, Bennett LE, Keck BM, Fiol B, Boucek MM, Novick RJ (1999) The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: sixteenth official report--1999. *J Heart Lung Transplant* 18:611-626.
79. Hussain AN, Siddiqui MT, Holmes EW, et al. (1999) Analysis of Risk Factors for the Development of Bronchiolitis Obliterative Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 159:829-833.
80. Iwasaki K, Matsuda H, Nagase K, et al. (1993) Effects of 23 drugs on the metabolism of FK 506 by human liver microsomes. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 82:209-216.
81. Iwen PC, Reed EC, Armitage JO, Bierman PJ, Kessinger A, Vose JM, Arneson MA, Winfield BA, Woods GL (1993) Nosocomial invasive aspergillosis in lymphoma patients treated with bone marrow or peripheral stem cell transplants [see comments]. *Infect Control Hosp Epidemiol* 14:131-139.
82. Jindal RM, Sidner RA, Milgrom ML (1997) Post-transplant diabetes mellitus: the role of immunosuppression. *Drug Saf* 16:257
83. Judson MA (1993) Clinical aspects of lung transplantation. *Clin Chest Med* 14:335-357.
84. Kaiser LR, Cooper JD (1992) The current status of lung transplantation. *Adv Surg* 25:259-307.
85. Kaiser LR, Pasque MK, Trulock EP, et al. (1991) Bilateral sequential lung transplantation: the procedure of choice for double-lung replacement. *Ann Thorac Surg* 52:438-446.
86. Keenan RJ, Dauber JH, Iacono AT, et al. (1998) Long-term follow-up clinical trial of tacrolimus versus cyclosporin for lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 17:58A(Abstract)
87. Keenan RJ, Konishi H, Kawai A, Paradis IL, Nunley DR, Iacono AT, Hardesty RL, Weyant RJ, Griffith BP (1995) Clinical trial of tacrolimus versus cyclosporine in lung transplantation [see comments]. *Ann Thorac Surg* 60:580-584.

88. Keenan RJ, Lega ME, Dummer JS, Paradis IL, Dauber JH, Rabinowich H, Yousem SA, Hardesty RL, Griffith BP, Duquesnoy RJ (1991) Cytomegalovirus serologic status and postoperative infection correlated with risk of developing chronic rejection after pulmonary transplantation. *Transplantation* 51:433-438.
89. Kelly J, Hurley D, Raghu G (2000) Comparison of the efficacy and cost effectiveness of pre-emptive therapy as directed by CMV antigenemia and prophylaxis with ganciclovir in lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 19:355-359.
90. Kelly K, Hertz MI (1997) Obliterative bronchiolitis. *Clin Chest Med* 18:319-338.
91. Kesten S, Chaparro C, Scavuzzo M, Gutierrez C (1997) Tacrolimus as rescue therapy for bronchiolitis obliterans syndrome. *J Heart Lung Transplant* 16:905-912.
92. Kino T, Hatanaka H, Hashimoto M, Nishiyama M, Goto T, Okuhara M, Kohsaka M, Aoki H, Imanaka H (1987) FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a *Streptomyces*. I. Fermentation, isolation, and physico-chemical and biological characteristics. *J Antibiot (Tokyo)* 40:1249-1255.
93. Kitchin JE, Pomeranz MK, Pak G, Washenik K, Shupack JL (1997) Rediscovering mycophenolic acid: a review of its mechanism, side effects, and potential uses. *J Am Acad Dermatol* 37:445-449.
94. Klepetko W, Sarahrudi K., Corris P, Niedermeyer J, Glanville A (2002) Efficacy of conversion from cyclosporine A to tacrolimus in lung transplantation. *Am J Transplant JID - 100968638* 2 (Suppl 3):159
95. Kobashigawa J, Miller L, Renlund D, Mentzer R, Alderman E, Bourge R, Costanzo M, Eisen H, Dureau G, Ratkovec R, Hummel M, Ipe D, Johnson J, Keogh A, Mamelok R, Mancini D, Smart F, Valentine H (1998) A randomized active-controlled trial of mycophenolate mofetil in heart transplant recipients. Mycophenolate Mofetil Investigators [see comments]. *Transplantation* 66:507-515.
96. Kramer MR, Marshall SE, Denning DW, Keogh AM, Tucker RM, Galgiani JN, Lewiston NJ, Stevens DA, Theodore J (1990) Cyclosporine and itraconazole interaction in heart and lung transplant recipients. *Ann Intern Med* 113:327-329.
97. Kramer MR, Marshall SE, Starnes VA, Gamberg P, Amitai Z, Theodore J (1993) Infectious complications in heart-lung transplantation. Analysis of 200 episodes. *Arch Intern Med* 153:2010-2016.
98. Kramer MR, Stoehr C, Whang JL, Berry GJ, Sibley R, Marshall SE, Patterson GM, Starnes VA, Theodore J (1993) The diagnosis of obliterative bronchiolitis after heart-lung and lung transplantation: low yield of transbronchial lung biopsy. *J Heart Lung Transplant* 12:675-681.

99. Kroshus TJ, Kshetry VR, Savik K, et al. (1997) Risk Factors for the Development of Bronchiolitis Obliterans Syndrome after Lung Transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 114:195-202.
100. Kruger RM, Shannon WD, Arens MQ, Lynch JP, Storch GA, Trulock EP (1999) The impact of ganciclovir-resistant cytomegalovirus infection after lung transplantation. *Transplantation* 68:1272-1279.
101. Lentino JR, Rosenkranz MA, Michaels JA, Kurup VP, Rose HD, Rytel MW (1982) Nosocomial aspergillosis: a retrospective review of airborne disease secondary to road construction and contaminated air conditioners. *Am J Epidemiol* 116:430-437.
102. Libby P, Tanaka H (1994) The pathogenesis of coronary arteriosclerosis ("chronic rejection") in transplanted hearts. *Clin Transplant* 8:313-318.
103. Lipson DA, Palevsky HI, Kotloff RM, Edelman J (1998) Conversion to tacrolimus (FK506) from cyclosporine after orthotopic lung transplantation. *Transplant Proc* 30:1505-1507.
104. Liu J (1993) FK506 and cyclosporin, molecular probes for studying intracellular signal transduction [published erratum appears in *Immunol Today* 1993 Aug;14(8):399]. *Immunol Today* 14:290-295.
105. Liu J, Farmer JDJ, Lane WS, Friedman J, Weissman I, Schreiber SL (1991) Calcineurin is a common target of cyclophilin-cyclosporin A and FKBP-FK506 complexes. *Cell* 66:807-815.
106. Lynch WS, Roenigk HHJ (1977) Mycophenolic acid for psoriasis. *Arch Dermatol* 113:1203-1208.
107. Manez R, Jain J, Marino IR, et al. (1995) Comparative evaluation of Tacrolimus (FK-506) and Cyclosporin A as immunosuppressive agents. *Transplant Rev* 9:63-76.
108. Matsuda H, Iwasaki K, Shigara T, et al. (1996) Interactions of FK 506 (tacrolimus) with clinically important drugs. *Res Commun Mol Path Pharmacol* 91:57-64.
109. Matsumara A, Marchesky A, Zuo XJ, Kass RM, Jordan SC (1995) Assessment of pathological changes associated with chronic allograft rejection and tolerance in two experimental models on rat lung transplantation. *Transplantation* 1509-1517.
110. Mattner F, Chaberny IF, Weissbrodt H, Fischer S, Gastmeier P, Haubitz B, Gottlieb J, Mattner L, Strueber M (2005) Surveillance of invasive mold infections in lung transplant recipients: effect of antimycotic prophylaxis with itraconazole and voriconazole. *Mycoses* 28 Suppl 1:51-55.
111. Maurer JR (1994) Lung transplantation bronchiolitis obliterans. In: *Disease of the bronchioles* (Epler GR ed), pp 275-289. New York: Raven Press.

112. Maurer JR, Morrison D, Winton TL, Patterson GA (1991) Late pulmonary complications of isolated lung transplantation. *Transplant Proc* 23:1224-1225.
113. McCauley J, Fung J, Jain A, Todo S, Starzl TE (1990) The effects of FK 506 on renal function after liver transplantation. *Transplant Proc* 22:17-20.
114. McKenna BA, Pabico RC, Cerilli GJ (1994) Cyclosporine A assays: comparison between radioimmunoassay and fluorescent polarization immunoassay technique by TDx, and the clinical significance of the polyclonal:monoclonal TDx ratio. *Transplant Proc* 26:2818-2819.
115. Meiser BM, Pfeiffer M, Schmidt D, Reichenspurner H, Ueberfuhr P, Paulus D, von Scheidt W, Kreuzer E, Seidel D, Reichart B (1999) Combination therapy with tacrolimus and mycophenolate mofetil following cardiac transplantation: importance of mycophenolic acid therapeutic drug monitoring. *J Heart Lung Transplant* 18:143-149.
116. Meiser BM, Ueberfuhr P, Fuchs A, Schmidt D, Pfeiffer M, Paulus D, Schulze C, Wildhirt S, Scheidt WV, Angermann C, Klauss V, Martin S, Reichenspurner H, Kreuzer E, Reichart B (1998) Single-center randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in the prevention of acute myocardial rejection. *J Heart Lung Transplant* 17:782-788.
117. Metras D (1992) Henri Metras: a pioneer in lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 11:1213-1215.
118. Mignat C (1997) Clinically significant drug interactions with new immunosuppressive agents. *Drug Saf* 16:267-278.
119. Milne DS, Gascoigne AD, Ashcroft T, Sviland L, Malcolm AJ, Corris PA (1994) Organizing Pneumonia Following Pulmonary Transplantation and the Development of Obliterative Bronchiolitis. *Transplantation* 57:1757-1762.
120. Moretti S, Zikos P, Van Lint MT, Tedone E, Occhini D, Gualandi F, Lamparelli T, Mordini N, Berisso G, Bregante S, Bruno B, Bacigalupo A (1998) Forscarnet vs ganciclovir for cytomegalovirus (CMV) antigenemia after allogeneic hemopoietic stem cell transplantation (HSCT): a randomised study. *Bone Marrow Transplant* 22:175-180.
121. Morris RE (1993) New molecule immunosuppressants for transplantation: review of essential concepts. *J Heart Lung Transplant* 12:S275-S286
122. Morris RE (1996) Mechanisms of action of new immunosuppressive drugs. *Kidney Int Suppl* 53:S26-S38
123. Muller C, Furst H, Reichenspurner H, Briegel J, Groh J, Reichart B (1999) Lung procurement by low-potassium dextran and the effect on preservation injury. Munich Lung Transplant Group. *Transplantation* 68:1139-1143.

124. Mutschler E (1996) Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. Stuttgart: Wissensch.Verl.Ges.
125. Nalesnik MA, Lai HS, Murase N, Todo S, Starzl TE (1990) The effect of FK 506 and CyA on the Lewis rat renal ischemia model. *Transplant Proc* 22:87-89.
126. Neylan JF, and the FK 506 Kidney Transplant Study Group (1998) Effect of race and immunosuppression in renal transplantation: three-year survival results from a US Multicenter, randomized trial. *Transplant Proc JID - 0243532* 30:1355-1358.
127. Niese D (1995) A double-blind randomized study of Sandimmun Neoral versus Sandimmun in new renal transplant recipients: results after 12 months. The International Sandimmun Neoral Study Group. *Transplant Proc* 27:1849-1856.
128. Noble S, Markham A (1995) Cyclosporine: a review of the pharmacokinetic properties, clinical efficacy and tolerability of a microemulsion-based formulation (Neoral). *Drugs* 50:924-941.
129. Nonn, R., McCabe, M., Garrity, E. R., and and the Loyola Transplant Program. Effects of Tacrolimus on lung allograft rejection rate. Proceedings of the 16th annual meeting of the American Society of Transplant Physicians. 1997. (GENERIC)  
Ref Type: Conference Proceeding
130. Onsager DR, Canver CC, Jahania MS, Welter D, Michalski M, Hoffman AM, Mentzer RMJ, Love RB (1999) Efficacy of tacrolimus in the treatment of refractory rejection in heart and lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 18:448-455.
131. Patterson GA, Cooper JD (1995) Lung Transplantation. In: *Thoracic Surgery* (Pearson FG ed), pp 931-932.
132. Patterson TF, Kirkpatrick WR, White M, Hiemenz JW, Wingard JR, Dupont B, Rinaldi MG, Stevens DA, Graybill JR (2000) Invasive aspergillosis. Disease spectrum, treatment practices, and outcomes. I3 Aspergillus Study Group [In Process Citation]. *Medicine (Baltimore)* 79:250-260.
133. Peters DH, Fitton A, Plosker GL, Faulds D (1993) Tacrolimus. A review of its pharmacology, and therapeutic potential in hepatic and renal transplantation. *Drugs* 46:746-794.
134. Pham SM, Kormos RL, Murali S, Kawai A, Demetris AJ, Hattler BG, Williams PA, McNamara D, Rosenblum W, Fricker FJ (1994) Cardiac transplantation at the University of Pittsburgh: 1994 update. *Clin Transpl* 121-125.
135. Pirsch JD, Miller J, Deierhoi MH, Vincenti F, Filo RS, for the FK 506 Kidney Transplant Study Group (1997) A comparison of tacrolimus (FK 506) and cyclosporine for immunosuppression after cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 63:977-983.

136. Quantz MA, Bennett LE, Meyer DM, Novick RJ (2000) Does Human Leukocyte Antigen Matching Influence the Outcome of Lung Transplantation? An Analysis of 3,459 Lung Transplantations. *J Heart Lung Transplant* 19:473-479.
137. Rao A (1994) NF-ATp: a transcription factor required for the co-ordinate induction of several cytokine genes. *Immunol Today* 15:274-281.
138. Reichart B (1995) *Lungentransplantationen*. Bern: Verlag Hans Huber.
139. Reichart B, Meiser B, Vigano M (1998) European multicenter tacrolimus (FK 506) heart pilot study: one-year results - European tacrolimus multicenter heart study group. *J Heart Lung Transplant* 17:775-781.
140. Reichenspurner H (2005) Overview of Tacrolimus-based immunosuppression after heart and lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 24:119-130.
141. Reichenspurner H, Ertel W, Hammer C, Lersch C, Reichart B, Uberfuhr P, Welz A, Reble B, Kemkes BM, Gokel M (1984) Immunologic monitoring of heart transplant patients under cyclosporine immunosuppression. *Transplant Proc* 16:1251-1254.
142. Reichenspurner H, Gamberg P, Nitschke M, Valantine H, Hunt S, Oyer PE, Reitz BA (1997) Significant reduction in the number of fungal infections after lung-, heart-lung, and heart transplantation using aerosolized amphotericin B prophylaxis. *Transplant Proc* 29:627-628.
143. Reichenspurner H, Girgis RE, Robbins RC, Conte JV, Nair RV, Valentine V, Berry GJ, Morris RE, Theodore J, Reitz BA (1995) Obliterative bronchiolitis after lung and heart-lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 60:1845-1853.
144. Reichenspurner H, Glanville A, Klepetko W, Lama R, Verleden G, Bravo C, Estenne M, Reichart B, Hirt S, Goni FZ, Aubert J, Borro JM, Usetti P, Wahlers T, Treede H (2003) Prospective randomized international multi-center investigator driven study comparing TAC and CSA (+MMF/steroids) after lung transplantation - interim analysis of 110 patients. *J Heart Lung Transplant* 22:S77-S77
145. Reichenspurner H, Glanville A, Klepetko W, Lama R, Verleden GM, Bravo C, Estenne M, Hirt S, Goni FZ, Aubert J, Borro JM, Usetti P, Wahlers T, Abramor E, Treede H (2005) One year complete follow-up of a prospective randomized international investigator driven study comparing Tac and CsA (+ MMF/steroids) after lung transplantation in 274 patients. *J Heart Lung Transplant* 24:S82-S82
146. Reichenspurner H, Kur F, Treede H, Meiser BM, Deutsch O, Welz A, Vogelmeier C, Schwaiblmair M, Muller C, Furst H, Briegel J, Reichart B (1999) Optimization of the immunosuppressive protocol after lung transplantation. *Transplantation* 68:67-71.

147. Reitz BA, Wallwork JL, Hunt SA, Pennock JL, Billingham ME, Oyer PE, Stinson EB, Shumway NE (1982) Heart-lung transplantation: successful therapy for patients with pulmonary vascular disease. *N Engl J Med* 306:557-564.
148. Roitt I., Brostoff J, Male D (1996) *Immunology*. Mosby.
149. Ross DJ, Belman MJ, Mohsenifar Z, Nathan SD, Kass RM, Koerner SK (1994) Obstructive flow-volume loop contours after single lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 13:508-513.
150. Ross DJ, Lewis MI, Kramer M, Vo A, Kass RM (1997) FK 506 'rescue' immunosuppression for obliterative bronchiolitis after lung transplantation. *Chest* 112:1175-1179.
151. Ross DJ, Waters PF, Levine M, Kramer M, Ruzevich S, Kass RM (1998) Mycophenolate mofetil versus azathioprine immunosuppressive regimens after lung transplantation: preliminary experience. *J Heart Lung Transplant* 17:768-774.
152. Rossi SJ, Schroeder TJ, Hariharan S (1993) Prevention and management of adverse effects associated with immunosuppressive therapy. *Drug Saf* 9:104-131.
153. Rubin RH (1990) Impact of cytomegalovirus infection on organ transplant recipients. *Rev Infect Dis* 12 Suppl 7:S754-S766
154. Sarahrudi K., Estenne M, Corris P, Niedermeyer J, Knoop C, Glanville A, Chaparro C, Verleden G, Gerbase M, Venuta F, Böttcher H, Aubert JD, Levvey B, Reichenspurner H (2004) International experience with conversion from cyclosporine to tacrolimus for acute and chronic lung allograft rejection. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 127:1126-1132.
155. Schreiber SL (1992) Immunophilin-sensitive protein phosphatase action in cell signaling pathways. *Cell* 70:365-368.
156. Schulman LL, Weinberg AD, McGregor C, Galantowicz ME, Suci-Foca NM, Itescu S (1998) Mismatches at the HLA-DR and HLA-B loci are risk factors for acute rejection after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 157:1833-1837.
157. Schumann G, Petersen D, Hoyer PF, Wonigeit K (1993) Monitoring cyclosporin A (ciclosporin, INN) concentrations in whole blood: evaluation of the EMIT assay in comparison with HPLC and RIA. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 31:381-388.
158. Sharples L, McNeil K, Stewart S, Wallwork J (2002) Risk Factors for Bronchiolitis Obliterans: A Systematic Review of Recent Publications. *J Heart Lung Transplant* 21:271-281.

159. Shaw RJ, Benedict SH, Clark RA, King TEJ (1991) Pathogenesis of pulmonary fibrosis in interstitial lung disease. Alveolar macrophage PDGF(B) gene activation and up-regulation by interferon gamma. *Am Rev Respir Dis* 143:167-173.
160. Shumaker HBJ (1994) A surgeon to remember: notes about Vladimir Demikhov. *Ann Thorac Surg* 1213-1216.
161. Soghikian MV, Valentine VG, Berry GJ, Patel HR, Robbins RC, Theodore J (1996) Impact of ganciclovir prophylaxis on heart-lung and lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 15:881-887.
162. Sollinger HW (1996) From mice to man: the preclinical history of mycophenolate mofetil. *Clin Transplant* 10:85-92.
163. Speich R, Thurnheer R, Gaspert A, Weder W, Boehler A (1999) Efficacy and cost effectiveness of oral ganciclovir in the prevention of cytomegalovirus disease after lung transplantation. *Transplantation* 67:315-320.
164. Spencer CM, Goa KL, Gillis JC (1997) Tacrolimus. An update of its pharmacology and clinical efficacy in the management of organ transplantation. *Drugs* 54:925-975.
165. Sundaresan S, Mohanakumar T, Smith MA, Trulock EP, Lynch J, Phelan D, Cooper JD, Patterson GA (1998) HLA-A locus mismatches and development of antibodies to HLA after lung transplantation correlate with the development of bronchiolitis obliterans syndrome. *Transplantation* 65:648-653.
166. Suthanthiran M, Strom TB (2000) Renal transplantation. *N Engl J Med* 331:365-376.
167. Tanaka H, Kuroda A, Asano M, Goto T, Okuhara M (1987b) Fk-506 related compounds produced by *Streptomyces Tsukubaensis*. *Transplant Proc Suppl* 19:S11-S16
168. Tanaka H, Kuroda A, Marusawa H, Hashimoto M, Hatanaka H, Kino T, Goto T, Okuhara M (1987) Physicochemical properties of FK-506, a novel immunosuppressant isolated from *Streptomyces tsukubaensis*. *Transplant Proc* 19:11-16.
169. Tanaka H, Kuroda A, Marusawa H, Hatanaka H, Kino T, Goto T, et al. (1987a) Structure of FK-506, a novel immunosuppressant isolated from *Streptomyces*. *J Am Chem Soc* 109:5031-5033.
170. Tanoue LT (1992) Lung transplantation. *Lung* 170:187-200.
171. Taylor DO, Barr ML, Radovancevic B (1999) A randomized, multicenter comparison of tacrolimus and cyclosporine immunosuppressive regimens in cardiac transplantation: decreased hyperlipidemia and hypertension with tacrolimus. *J Heart Lung Transplant* 18:336-345.

172. The U.S.Multicenter FK506 Liver Study Group (1994) A comparison of tacrolimus (FK 506) and cyclosporine for immunosuppression in liver transplantation. The U.S. Multicenter FK506 Liver Study Group [see comments]. *N Engl J Med* 331:1110-1115.
173. Thompson AW, Bonham CA, Zeevi A (1995) Mode of action of tacrolimus (FK-506): molecular and cellular mechanisms. *Ther Drug Monit* 17:584-591.
174. Todo S, Fung JJ, Starzl TE, Tzakis A, Demetris AJ, Kormos R, Jain A, Alessiani M, Takaya S, Shapiro R (1990) Liver, kidney, and thoracic organ transplantation under FK 506. *Ann Surg* 212:295-305.
175. Tourkantonis A, Lazaridis A (1983) Interaction between cytomegalovirus infection and renal transplant rejection. *Kidney Int Suppl* S-9
176. Treede H, Klepetko W, Reichenspurner H, Zuckermann A, Meiser B, Birsan T, Wisser W, Reichart B (2001) Tacrolimus versus cyclosporine after lung transplantation: a prospective, open, randomized two-center trial comparing two different immunosuppressive protocols. *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 20:511-517.
177. Trulock EP (1992) Lung transplantation. *Annu Rev Med* 43:1-8.
178. Trulock EP, Edwards LB, Taylor DO, Boucek MM, Keck BM, Hertz MI (2005) Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-second official adult lung and heart-lung transplant report - 2005. *J Heart Lung Transplant* 24:956-967.
179. Trulock EP, Edwards LB, Taylor DO, Boucek MM, Mohacsi PJ, Keck BM, Hertz MI (2003) The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Twentieth Official Adult Lung and Heart-Lung Transplant Report - 2003. *J Heart Lung Transplant* 22:625-635.
180. Valentine HA (1995) Prevention and treatment of cytomegalovirus disease in thoracic organ transplant recipients: evidence of beneficial effect of hyperimmune globulin. *Transplant Proc* 27:49-57.
181. van den Berg JW, Postma DS, Koeter GH, van der Bij W (1999) New immunosuppressive drugs and lung transplantation: last or least? *Thorax* 54:550-553.
182. Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, et al. (1995) Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinet* 29:404-430.
183. Virella G, Silveira Machado D, Galbraith R (1993) Transplantation Immunology. In: *Introduction to Medical Immunology* (Virella G ed), pp 484-485. New York: Marcel Dekker Inc.
184. Vogelmeier C, Behr J, Kolbe T, Schwaiblmair M, Furst H, Kur F, Briegel J, Haller M, Groh J, Reichart B, Dienemann H (1996) [Lung transplantation]. *Pneumologie* 50 Suppl 3:854-859.

185. Wallwork J (1994) Risk factors for chronic rejection in heart and lungs--why do hearts and lungs rot? *Clin Transplant* 8:341-344.
186. Walsh TJ, Dixon DM (1989) Nosocomial aspergillosis: environmental microbiology, hospital epidemiology, diagnosis and treatment. *Eur J Epidemiol* 5:131-142.
187. Westney GE, Kesten S, De Hoyos A, Chapparro C, Winton T, Maurer JR (1996) Aspergillus infection in single and double lung transplant recipients. *Transplantation* 61:915-919.
188. Wiebe K, Harringer W, Franke U, Struber M, Krug N, Korff F, Wahlers T, Cremer J, Haverich A (1998) FK506 rescue therapy in lung transplantation. *Transplant Proc* 30:1508-1509.
189. Wiederrecht G, Lam E, Hung S, Martin M, Sigal N (1993) The mechanism of action of FK-506 and cyclosporin A. *Ann N Y Acad Sci* 696:9-19.
190. Wildevuur CR, Benfield JR (1970) A review of 23 human lung transplantations by 20 surgeons. *Ann Thorac Surg* 9:489-515.
191. Yeldandi V, Laghi F, McCabe MA, Larson R, O'Keefe P, Husain A, Montoya A, Garrity ERJ (1995) Aspergillus and lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 14:883-890.
192. Zamora MR (2002) Controversies in lung transplantation: management of cytomegalovirus infections. *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 21:841-849.
193. Zeevi A (1994) Immunopathology of lung transplantation. In: *The pathology of lung transplantation* (Yousem SA ed), pp 1-37. Pittsburgh:
194. Zenati M, Dowling RD, Dummer JS, Paradis IL, Arena VC, Armitage JM, Kormos RL, Hardesty RL, Griffith BP (1990) Influence of the donor lung on development of early infections in lung transplant recipients. *J Heart Transplant* 9:502-508.
195. Zucker K, Rosen A, Tsaroucha A, de Faria L, Roth D, Ciancio G, Esquenazi V, Burke G, Tzakis A, Miller J (1997) Augmentation of mycophenolate mofetil pharmacokinetics in renal transplant patients receiving Prograf and CellCept in combination therapy. *Transplant Proc* 29:334-336.
196. Zuckermann A, Klepetko W, Birsan T, Taghavi S, Artemiou O, Wisser W, Dekan G, Wolner E (1999) Comparison between mycophenolate mofetil- and azathioprine-based immunosuppressions in clinical lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 18:432-440.
197. Zuckermann A, Reichenspurner H, Birsan T, Treede H, Deviatko E, Reichart B, Klepetko W (2003) Cyclosporine A versus tacrolimus in combination with mycophenolate mofetil and steroids as primary immunosuppression after lung transplantation: One-year results of a 2-center prospective randomized trial. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 125:891-900.

198. Zuckermann A, Reichenspurner H, Jaksch P, Treede H, Wisser W, Groetzner J, Reichart B, Klepetko W (2003) Long term follow-up of a prospective randomized trial comparing Tacrolimus versus Cyclosporine in combination with MMF after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 22:S76-S77

**Lebenslauf**

Name:		Oliver Deutsch
Geburtsdatum:		03.06.1975
Geburtsort:		Budapest
Familienstand:		Ledig
Staatsangehörigkeit:		Deutsch
Eltern:		Ildiko Deutsch, geb. Nagy Sandor Deutsch
Schulbildung:	1982-1986	„Sinai“ Jüdische Grundschule München
	1986-1990	Wilhelm-Hausenstein-Gymnasium München
	1990-1992	„Kfar Batya“ American High School Ra'anana, Israel
	1992-1995	Wilhelm-Hausenstein-Gymnasium München Abschluß: Abitur (Gesamtnote: 1,8)
Studium:	1995-2002	Humanmedizin Ludwig-Maximilians-Universität München
Prüfungen:	1997	Ärztliche Vorprüfung, München, 12.09.97
	1999	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, München, 23.03.99
	2001	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, München, 30.03.01

	2002	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, München, 08.10.02
Famulaturen:	1998	Herzchirurgische Klinik Klinikum Großhadern Ludwig-Maximilians-Universität München
	1998	Dept. Cardiovascular and Thoracic Surgery Sourasky Medical Center Tel-Aviv University, Israel
	2001	Dept. Cardiothoracic Surgery Groote Shuur Hospital Universität Cape Town, Südafrika
Praktisches Jahr:	2001-2002	Innere Medizin: Sourasky Medical Center Tel-Aviv University, Israel und Klinikum Innenstadt, Ludwig- Maximilians-Universität, München
		Anästhesie: Klinikum Großhadern Ludwig-Maximilians-Universität, München
		Chirurgie: Klinikum Innenstadt Ludwig-Maximilians-Universität, München

Arzt im Praktikum:	2002-2004	Klinik und Poliklinik für Herz- und Gefäßchirurgie, Universitäres Herzzentrum, Hamburg-Eppendorf Prof. Dr. H. Reichenspurner, Ph.D.
Assistenzarzt:	seit 01.06.2004	Klinik und Poliklinik für Herz- und Gefäßchirurgie, Universitäres Herzzentrum, Hamburg-Eppendorf, Prof. Dr. H. Reichenspurner, Ph.D.

## **Danksagung**

Besonders möchte ich mich bei Herrn Professor Dr. med. H. Reichenspurner, Ph.D. für die Überlassung des Themas, sowie die optimale und verständnisvolle Förderung während meiner Tätigkeit bedanken.

Dankbar bin ich weiterhin Herrn Dr. med. H. Treede für die Betreuung der Dissertation und seine freundschaftliche Zusammenarbeit und Diskussion.

Schließlich danke ich Herrn Dr. med. Dipl. Phys. C. Schirmer, Harvard Medical School, Boston, Mass., für seine freundschaftliche Kooperation und Unterstützung bei der statistischen Aufbereitung der Daten.

**Erklärung**

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht an einen Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um die Zulassung zur Promotion beworben habe.

Hamburg, den 21.12.05