

Aus dem Deutschen Herzzentrum Berlin,
Klinik für angeborene Herzfehler/Kinderkardiologie
Direktor: Prof. Dr. F. Berger

Habilitationsschrift

„Klinische Aspekte in der Kinderherztransplantation“

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Kinder- und Jugendmedizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. Stephan Schubert

aus Bremen

Eingereicht: November 2011

Dekanin: Prof. Dr. med. Annette Grüters-Kieslich

1. Gutachter/in: Prof. Dr. S. Dittrich, Erlangen

2. Gutachter/in: Prof. Dr. D. Schranz, Giessen

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | <u>EINLEITUNG</u> | 4 |
| 1.1 | HISTORIE | 4 |
| 1.2 | DIE HERZTRANSPLANTATION UND DIE POSTOPERATIVE PHASE | 5 |
| 1.3 | MORBIDITÄT UND MORTALITÄT NACH HERZTRANSPLANTATION | 6 |
| 1.4 | KINDERHERZTRANSPLANTATION AM DEUTSCHEN HERZZENTRUM BERLIN | 7 |
| 2 | <u>EIGENE ARBEITEN</u> | 9 |
| 2.1 | ÜBERWACHUNG DER IMMUNSUPPRESSION NACH HERZTRANSPLANTATION | 9 |
| 2.2 | DIE TRANSPLANTATVASKULOPATHIE (TVP) | 18 |
| 2.2.1 | DIAGNOSTIK DER TRANSPLANTATVASKULOPATHIE | 18 |
| 2.2.2 | BESTIMMUNG DER KORONARE FLUSSRESERVE (KFR, ENGL. CFR) | 19 |
| 2.3 | POSTTRANSPLANT LYMPHOPROLIFERATIVE DISEASE (PTLD) | 28 |
| 2.3.1 | DIAGNOSTIK UND BEHANDLUNG DER PTLD | 29 |
| 2.4 | EPSTEIN-BARR-VIRUS (EBV) NACH HERZTRANSPLANTATION | 41 |
| 2.4.1 | MONITORING DES EPSTEIN-BARR-VIRUS | 41 |
| 2.4.2 | MONITORING DER EBV-SPEZIFISCHEN T-ZELL-ANTWORT | 42 |
| 2.5 | LANGZEITERGEBNISSE NACH HERZTRANSPLANTATION | 49 |
| 2.5.1 | PATIENTENGRUPPE AM DEUTSCHEN HERZZENTRUM BERLIN (DHZB) | 49 |
| 2.5.2 | ÜBERLEBEN NACH PÄDIATRISCHER HERZTRANSPLANTATION | 49 |
| 2.5.3 | TRANSPLANTATVASKULOPATHIE (TVP) | 50 |
| 2.5.4 | PTLD | 50 |
| 3 | <u>DISKUSSION</u> | 59 |
| 4 | <u>ZUSAMMENFASSUNG</u> | 62 |
| 5 | <u>LITERATUR</u> | 63 |
| | <u>DANKSAGUNG</u> | 67 |
| | <u>ERKLÄRUNG</u> | 68 |

| Abkürzungen | | |
|-------------|---|--|
| CAV | - | Cardiac allograft vasculopathy (dtsch. TVP) |
| CFR | - | Coronary flow reserve (= dtsch. Koronare Flussreserve) |
| CMV | - | Zytomegalie Virus |
| DHZB | - | Deutsches Herzzentrum Berlin |
| EBV | - | Epstein-Barr-Virus (EBV) |
| HTx | - | Herztransplantation |
| mTOR | - | Mammalian target of Rapamycin |
| PTLD | - | Posttransplant lymphoproliferative disease |
| TVP | - | Transplantatvaskulopathie (engl. CAV) |

1 Einleitung

1.1 Historie

Die Herztransplantation im Kindesalter ist die Therapie der Wahl bei Pat. mit terminaler Herzinsuffizienz, die denen die Möglichkeiten einer Stabilisierung mittels konservativer Methoden nicht mehr ausreicht. Die erste Herztransplantation erfolgte am 02/03. Dezember 1967 in Kapstadt durch Christian Barnard [1]. Kantrowitz und seine Kollegen folgten am 06. Dezember 1967 mit der ersten weltweiten Kinderherztransplantation in New York [2]. Dabei wurde das Spenderorgan in ein 19 Tage altes Neugeborenes mit Trikuspidalatresie mit Kreislaufstillstand und systemischer Hypothermie implantiert. Auch wenn damit gezeigt wurde, dass eine Herztransplantation sogar im Kindes-/Neugeborenenalter möglich ist, verstarb das Kind sechs Stunden nach der Operation an einer kombinierten Azidose [2]. Es folgte daraufhin am 13. Februar 1969 die erste Herztransplantation in Deutschland [3]. Aber die Mortalität der ersten transplantierten Patienten blieb weiterhin hoch, nur wenige überlebten mehr als eine Woche. Dieses war vor allem durch die damals noch unbekannte Möglichkeit zur Abstoßungsreaktion bedingt und der Einsatz der Immunsuppressiva war damals noch wenig spezifisch. Dadurch dominierten vor allem Infektionen als perioperative Komplikation.

Mit der klinischen Einführung des Calcineurin-Inhibitors Cyclosporin A (CyA) im Jahre 1981 folgte dann aber eine deutliche Zunahme des Transplantationsaufkommens auch in Deutschland. Am 21. Juli 1983 führte Prof. Dr. R. Hetzer die erste adulte Herztransplantation an der medizinischen Hochschule Hannover durch und publizierte 1985 bereits vielversprechende Zwei-Jahres-Erfahrungen von 69 Patienten [4]. 1984 gab es in Deutschland vier transplantierende Herzzentren: Klinikum und Herzzentrum München, Medizinische Hochschule Hannover und Universitätsklinikum Hamburg. Im März 1985 transplantierte Prof. Dr. Hetzer auch das erste Kinderherz in Deutschland [4].

Seitdem erfolgte in mehreren deutschen Herzzentren die Etablierung eines adulten und pädiatrischen Herztransplantationsprogrammes. So nahm die Anzahl der pädiatrischen Herztransplantationen, aber auch die Zahl der Patienten auf der Warteliste in Deutschland in den letzten Dekaden stetig zu. Patienten können heutzutage mit oder

ohne ventrikuläres Assist-Device (VAD) bis zur Transplantation gebracht werden. Der Anteil der Patienten mit VAD nahm in den letzten Jahren stetig durch die Verfügbarkeit von pädiatrischen Unterstützungssystemen (z.B. Berlin Heart Excor® und HeartWare®) zu. Eine zunehmende Anzahl von Kinder und Jugendlichen mit einem VAD erleben heute Wartezeiten von mehr als 365 Tagen bis zur Herztransplantation.

1.2 Die Herztransplantation und die postoperative Phase

Das Erreichen der Herztransplantation ist die erste große Hürde für die Patienten, den auch die Wartezeit birgt Risiken und eine erhöhte Mortalität.

Mit dem Zeitpunkt der Herztransplantation beginnt die Phase mit der Notwendigkeit zur lebenslangen Immunsuppression. Die Phase wird untergliedert in eine Phase mit einer intensiven Immunsuppression direkt perioperativ, die sogenannte „Induktionsphase“, und eine „Erhaltungsphase“ mit einer meist oralen Medikamentenapplikation. Abhängig von der Intensität der Immunsuppression besteht die Möglichkeit für Infektionen durch Bakterien, Viren oder Pilze. Zusätzlich besteht immer bei einer niedrigen Immunsuppression die Chance für eine Abstoßungsreaktion des Transplantats.

Die Mortalität und Morbidität der Patienten hat sich seit der ersten Herztransplantation deutlich verändert: Während zuerst Abstoßungsreaktionen und Infektionen im Vordergrund standen und häufig zum Verlust des Transplantats führten, ist heute das Überleben nach Herztransplantation durch den Einsatz und die Verfügbarkeit unterschiedlicher Immunsuppressiva signifikant verbessert worden. Die individuell „angepasste“ Immunsuppression bietet heute die Möglichkeit eine besser adaptierbare Immunsuppression durchzuführen. Obwohl die Therapie größtenteils zentrumsspezifisch durchgeführt wird, stehen heutzutage für eine Induktionstherapie unterschiedliche Medikamente, wie z.B. Thymozyten-, Lymphozyten- oder spezifische CD25-B-Zell-Antikörper, zur Verfügung. Auch die Erhaltungstherapie kann mit unterschiedlichen Kombinationen von immunsuppressiven Medikamenten durchgeführt werden. Die Auswahl der Medikamente beeinflusst entscheidend das Risiko- und Nebenwirkungsspektrum und auch die Effektivität mit der Verhinderung einer Abstoßungsreaktion.

1.3 Morbidität und Mortalität nach Herztransplantation

Während früher das Überleben direkt nach der Herztransplantation erschwert war, überleben heute die meisten Patienten die Herztransplantation. Die bedeutsamsten Probleme nach Herztransplantation sind schon lange nicht mehr chirurgisch bedingt. Wenn auch Kinder mit angeborenen Herzfehlern und einer Kreislaufunterstützung (z.B. VAD) eine erhöhte Mortalität aufweisen, so ist die gesamte Mortalität im Verlauf der Jahrzehnte doch gesunken. Die akute Rechtsherzinsuffizienz und die unbehandelbare antikörpervermittelte oder auch zelluläre Abstoßung bestimmen heute Mortalität und Morbidität direkt nach Herztransplantation.

Die Morbidität und Mortalität im weiteren Verlauf nach Herztransplantation wird dann bestimmt durch folgende Faktoren:

Eine unzureichende Immunsuppression oder immunsuppressive Wirkung führt zu:

1. Akuter Abstoßungsreaktion
2. Transplantatvaskulopathie
3. Transplantatversagen.

Der lebenslange Einsatz der Immunsuppression führt zu einem erhöhtem Risiko für:

4. Infektionen mit
 - a. Bakterien
 - b. Viren (vor allem Zytomegalie (CMV) und Epstein-Barr-Virus (EBV))
 - c. Pilzen,
5. Posttransplant Lymphoproliferative Disease (PTLD) bzw. Tumore,
6. Chronische Niereninsuffizienz.

Das Risiko und die Wahrscheinlichkeit für diese Komplikationen bestimmen das Überleben der Patienten nach Herztransplantation und ein Auftreten derselben wird mit zunehmender Zeit nach einer Transplantation immer wahrscheinlicher.

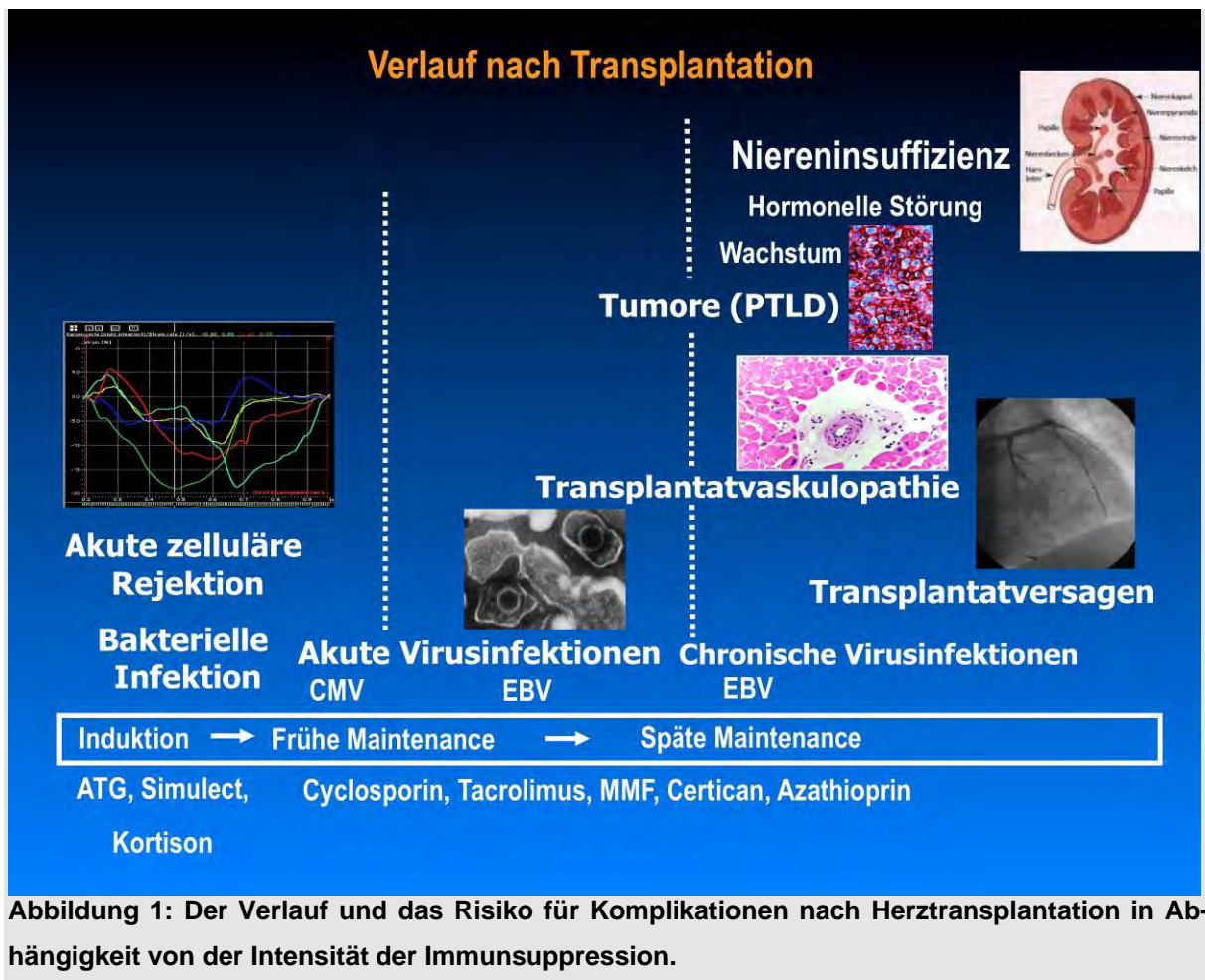


Abbildung 1: Der Verlauf und das Risiko für Komplikationen nach Herztransplantation in Abhängigkeit von der Intensität der Immunsuppression.

Die Notwendigkeit zur lebenslangen Immunsuppression besteht im Bereich der Herztransplantation und unterscheidet sich damit von anderen Organtransplantationen. Jedoch besteht zunehmend ein Sinneswandel bezüglich der Intensität der Immunsuppression im weiteren Verlauf nach Transplantation. So werden heute Optionen einer angepassten und möglichst reduzierten Immunsuppression mehr und mehr diskutiert und angewandt [5].

Dabei steht neben der Überwachung der Grafffunktion heute vor allem die Überwachung und auch Therapie möglicher Komplikationen durch die Immunsuppression im Vordergrund.

1.4 Kinderherztransplantation am Deutschen Herzzentrum Berlin

Am Deutschen Herzzentrum Berlin (DHZB) wird seit Initiierung des Transplantationsprogrammes durch Prof. Dr. R. Hetzer im Jahre 1986 neben Erwachsenen auch die Herztransplantation im Kindesalter durchgeführt. In den Jahren 1986–2010 erfolgten

im DHZB mehr als 1700 adulte und mehr als 170 pädiatrische (Patienten < 18 Jahre) Herztransplantationen. Einige der transplantierten Patienten erreichten bereits das 20. postoperative Jahr nach der ersten Herztransplantation. Damit verfügt das DHZB über das größte Herztransplantationsprogramm in Deutschland und eines der größten in Europa.

Die ausführlichen Ergebnisse und Erfahrungen des DHZB wurden 2011 in einer Publikation zusammengefasst [6].

2 Eigene Arbeiten

2.1 Überwachung der Immunsuppression nach Herztransplantation

Kinder und Jugendliche unterscheiden sich nicht nur in der Dosierung von Medikamenten. Die Wirksamkeit, Bioverfügbarkeit und Metabolisierung differiert deutlich im Vergleich mit Erwachsenen. Dieses betrifft in besonderer Weise die immunsuppressiven Medikamente. Die Bedeutung dieser Erkenntnis ist entscheidend, da eine reduzierte Bioverfügbarkeit schnell zu einer akuten Abstoßung oder auch zu einem chronischen Graftversagen führen kann. Daher ist eine engmaschige Überwachung der Medikamentengabe und der Blutspiegel („therapeutic drug monitoring“) indiziert. Im Jahre 2006 publizierten wir eine Studie zu der pharmakologischen Wirksamkeit von Cyclosporin A (CyA) in Kindern nach einer Herztransplantation [7]. Nach dieser Studie bilden nicht ausreichende Spiegel ein Risiko für eine akute Abstoßung. Der Talspiegel 12 Stunden nach der oralen Gabe dient zur Orientierung und Anpassung der Dosis vor einer nächsten Gabe bei einer täglich zweimaligen Applikation. Für Patienten nach einer Transplantation wurde ein sog. Zielspiegel definiert, also der Bereich des Blutspiegels, in dem der Werte abhängig vom Zeitpunkt der Herztransplantation liegen sollte. Dabei gibt es zentrumsspezifische Unterschiede, die vor allem von der Kombination der immunsuppressiven Therapie abhängen. Es kam aber vor, dass Pat. ausreichende Talspiegel hatten und trotzdem eine akute Abstoßung auftrat. Dieses wurde in der o.g. Studie in den Jahren 2001-2005 in 50 pädiatrischen Patienten nach Herztransplantation mit oraler CyA-Therapie untersucht. Dabei wurde neben dem routinemäßigen Talspiegel von CyA bestimmt mittels Massenspektrometrie auch der Spitzenspiegel 2 Stunden (C2-Spiegel) nach der Gabe bestimmt. Dieses wurde dann in Patienten mit und ohne bioptisch nachgewiesener Abstoßung analysiert. Dabei zeigte sich ein erniedrigter Spitzenspiegel unabhängig vom Talspiegel in Pat. mit einer akuten Rejektion. Ein Wert < 600 ng/ml war mit einem deutlich erhöhten Risiko für das Auftreten einer akuten Abstoßung verbunden. Dieser Wert erreichte eine Sensitivität von 100% und Spezifität von 82% [7]. Aufgrund dieser Erkenntnisse wurde der C2-Spiegel bzw. Spitzenspiegel in das Blutspiegel-Monitoring bei Kindern nach einer Herztransplantation mit aufgenommen. Mit der Bestimmung des C2-Spiegels können vor allem Patienten mit einer Resorptionsstörung des Medikamentes erkannt werden und bereits vor dem Auftreten einer akuten Abstoßung ggf.

auf einen anderen Calcineurin-Inhibitor wie z.B. Prograf umgestellt werden. Resorptionsstörungen und beschleunigte Metabolisationen sind vor allem bei kleineren Kindern häufiger der Fall.

Verweis auf die Originalarbeit 1 (Seiten 11 – 17 der Habilitationsschrift):

Advantages of C2 monitoring to avoid acute rejection in pediatric heart transplant recipients

Schubert S, Abdul-Khaliq H, Lehmkuhl HB, Hübler M, Abd El Rahman MY, Miera O, Ewert P, Weng Y, Wei H, Krüdwagen B, Hetzer R, Berger F

J Heart Lung Transplant. (2006), 25 (6), 619-25.

2.2 Die Transplantatvaskulopathie (TVP)

Die Transplantatvaskulopathie (TVP) (engl. „Cardiac allograft vasculopathy“ = CAV) ist einer der bedeutendsten Faktoren für das Überleben des transplantierten Herzens. Die Inzidenz der TVP nimmt mit zunehmendem Abstand zur Herztransplantation zu. Die damit verbundene Graftdysfunktion ist die häufigste Ursache für eine Re-Transplantation und verkürzt das Überleben der Patienten nach Herztransplantation. Die Entwicklung einer TVP ist jedoch von Patient zu Patient unterschiedlich und es gibt frühe und späte Manifestationen. Risiken für eine TVP sind rezidivierende Abstoßungen sowie akute Abstoßungen vor allem im 1 Jahr nach Herztransplantation, CMV-Infektionen und metabolische und immunologische Prozesse.

Dabei führen immunologische Prozesse zu einer Veränderung der Gefäßwandstruktur mit Möglichkeit zur Mediahypertrophie und Fibrose in den epikardialen und intramyokardialen Koronargefäßen [8]. Daraus entwickelt sich eine progressive Stenose der Gefäße mit der Möglichkeit zur akuten oder auch chronischen Ischämie des Transplantats, was wiederum zur Dysfunktion des Grafts führt [8-10]. Man unterscheidet dabei die makroskopische TVP mit Stenosierungen im Bereich der proximalen und epikardialen Gefäße, welche evtl. durch eine Ballondilatation- und/oder Stentimplantation behandelt werden kann [11]. Veränderungen der kleinen Arterien/Arteriolen und somit peripheren Gefäße, eine sogenannte mikroskopische TVP der intramyokardialen Gefäße, lässt sich nur zu Teilen angiographisch und besser durch eine ausführliche mikroskopische Analyse detektieren. Dieses ist aber entscheidend, da die Transplantatvaskulopathie sich initial vor allem bei Kindern meistens in den kleinen peripheren Gefäßen zuerst entwickelt [9, 10].

2.2.1 Diagnostik der Transplantatvaskulopathie

Die Diagnostik der TVP ist erschwert, da die Stenosierungen und damit auch akuten oder chronischen Ischämien meistens keine Symptome verursachen. Erst bei einer bedeutsamen Durchblutungsstörung besteht die Möglichkeit für Herzrhythmusstörungen oder auch Zeichen einer kardialen Dysfunktion [10, 12]. Der „Goldstandard“ zur Detektion der TVP ist die Angiographie oder der intravaskuläre Ultraschall (IVUS). Dafür muss bei den Kindern eine Linksherzkatheteruntersuchung erfolgen mit selektiver Darstellung der Koronargefäße. Dabei besteht die Möglichkeit zur Unterschätzung des Befundes aufgrund einer nicht ausreichenden Darstellbarkeit vor

allem der peripheren Gefäßstrecke. Intravaskulärer Ultraschall (IVUS) erfolgt durch einen zusätzlichen Ultraschallkatheter, der selektiv in die Herzkranzgefäße eingeführt wird. Dieser Katheter benötigt aber mindest einen 5 Fr. Führungskatheter, was den Einsatz bei kleineren Kindern erschwert und aufgrund der evtl. größeren arteriellen Schleusen auch zu mehr arteriellen Gefäßkomplikationen führen kann. Aber auch diese Methode ermöglicht eher die Beurteilung der proximalen Gefäße. Es gibt einige Studien zur invasiven und non-invasiven Detektion der TVP mit anderen Methoden, von denen sich aber bisher keine wirklich für die klinische Routine als geeignet erwiesen hat.

2.2.2 Bestimmung der koronare Flussreserve (KFR, engl. CFR)

Eine fortgeschrittene TVP führt zu einer reduzierten endothelialen Gefäßreagibilität auf physiologische und pharmazeutische Stimuli [9, 13]. Die Bestimmung der koronaren Flussreserve wurde von Doucette et al. beschrieben [14]. Sie ist definiert als das Verhältnis der maximalen und über mehrere EKG-Zyklen gemittelten Flussgeschwindigkeit nach pharmakologischer Stimulation geteilt durch den mittleren Ruhefluss vor Applikation ($KFR = (PAPV:BAPV) \times 100$ in %). Eine funktionale Stenosierung der epi- oder intramyokardialen Koronargefäße führt zu einer Abnahme des maximalen Flusses und damit zu einer Reduktion der KFR [14]. Die KFR wird durch physiologische Einflüsse verändert, z.B. durch Koronarokklusion, Ischämie oder Hypoxie. Die KFR kann gemessen werden durch die Flussmessung mittels eines intrakoronaren Doppler-Guide-Wire in Ruhe und nach intrakoronarer Applikation entweder eines endothelialen Vasodilatoren (Acetylcholin, Nitrooxygen) oder eines nicht endothelialen Vasodilatoren (Adenosin-di-phosphat = Adrekar; Sanofi-Synthelabo, Germany).

In den Jahren 2006-2007 führten wir eine Studie in 33 Kindern nach Herztransplantation durch. Dabei wurde neben der Angiographie und histologischen Untersuchung des Herzmuskelgewebes nach einer Biopsie aus dem rechten Ventrikel auch die KFR bestimmt. Dieses erfolgte nach initialer Diagnostik und Platzierung eines 0,014 Zoll Führungsdrahtes (Fa. Cardiometrics bzw. Volcano) in der linken Koronararterie. Es erfolgte die mehrfache Bestimmung des Ruheflusses und des maximalen Flusses nach intrakoronarer und systemischer Adenosingabe. In 17 von 33 Patienten mit einer makroskopische TVP zeigte sich eine reduzierte KFR. Die KFR war ebenfalls in Patienten mit einer mikroskopischen TVP reduziert [10]. Damit ließ sich ein funktio-

neller Parameter bei Kindern nach einer Herztransplantation bestimmen, der bei Vorliegen einer Transplantatvaskulopathie signifikant verändert ist. Die KFR bietet auch die Möglichkeit, durch ein nicht-invasives Dopplerverfahren (transthorakale oder transösophageale Echokardiographie) den koronaren Fluss zu bestimmen [15]. Somit war Vergleich vor allem der intrakoronaren und systemischen Applikation von Adenosin in dieser Studie entscheidend für die Etablierung einer nicht-invasiven KFR-Messung mittels transthorakalem Ultraschall [10, 15]. Die klinische Anwendbarkeit einer nichtinvasiven CFR mittels Echokardiographie sollte Gegenstand weiterer Studien sein.

Verweis of die Originalarbeit 2 (Seiten 21 – 28 der Habilitationsschrift):

Coronary flow reserve measurement detects transplant coronary artery disease in pediatric heart transplant patients

Schubert S, Abdul-Khaliq H, Wellnhofer E, Hiemann NE, Ewert P, Lehmkuhl HB, Meyer R, Miera O, Peters B, Hetzer R, Berger F

J Heart Lung Transplant. (2008), 27 (5), 514-21.

2.3 Posttransplant lymphoproliferative disease (PTLD)

Die Posttransplant-lymphoproliferative Erkrankung („disease“, PTLD) ist die dritthäufigste Todesursache bei Kindern nach einer Herztransplantation. Die größte Datenbank für päd. Herztransplantation der „The International Society for Heart and Lung Transplantation“ (ISHLT) zeigte in Ihrem jährlichen Bericht einen kontinuierlichen Anstieg der Inzidenz von Lymphoproliferationen im Verlauf der Jahre nach päd. Herztransplantation [16]. Dabei erreicht die Inzidenz nach 10 Jahren bereits 10%, siehe Abbildung 2.

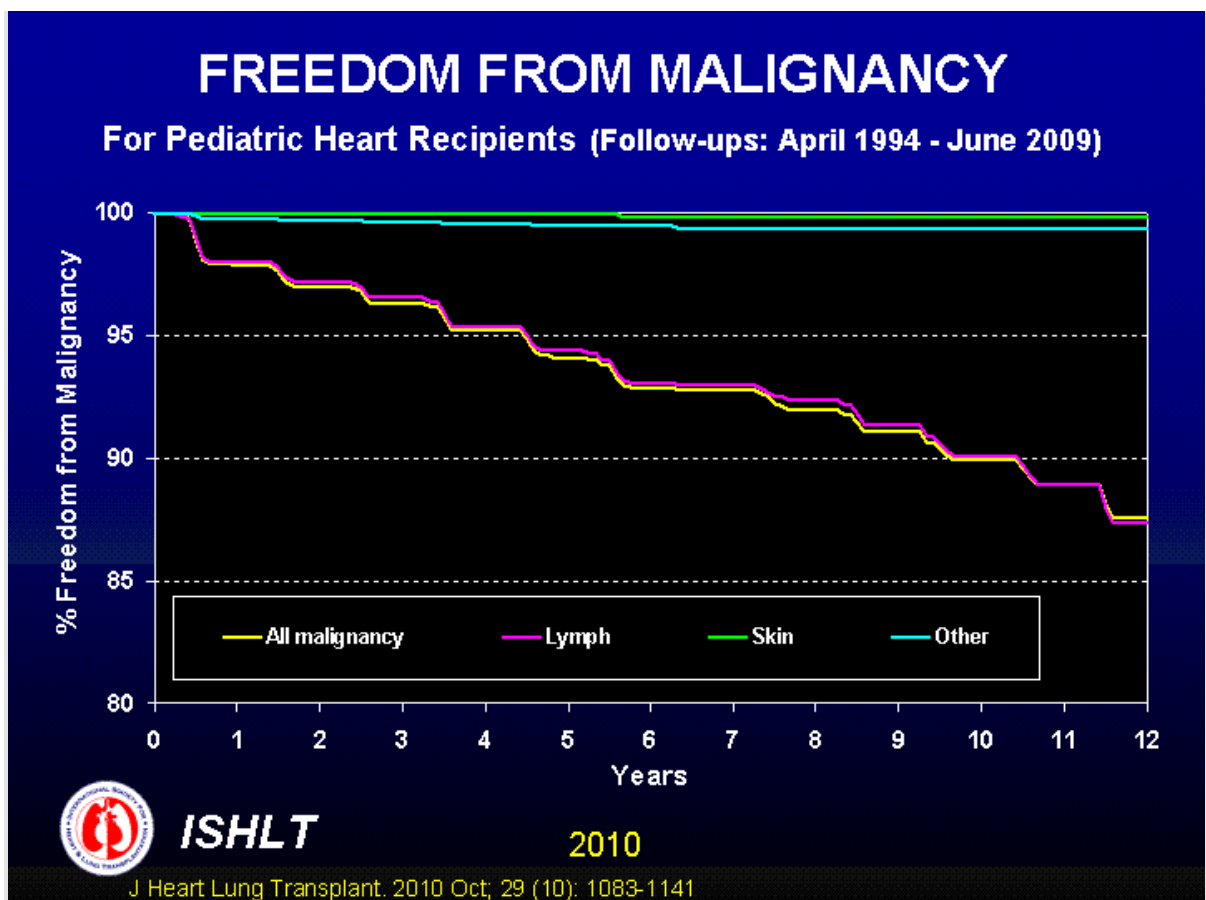


Abbildung 2: Inzidenz maligner Erkrankungen nach pädiatrischer Herztransplantation aus dem jährlichen Bericht der Gesellschaft für Herz-und Lungen-Transplantation (Annual Report of the ISHLT, 2010) [17].

Anders als im Erwachsenenalter sind maligne Tumoren bei Kindern nach Transplantation vorwiegend lymphoproliferativen Ursprungs i.S. einer PTLD.

Bei zunehmender Inzidenz erreicht die PTLD bei herztransplantierten Kindern in vielen Transplantationszentren eine Inzidenz von über 5-15% verbunden mit einer hohen Mortalität [18].

Risiken für die Entwicklung einer PTLD sind:

- das Alter zum Zeitpunkt der Transplantation [16, 19],
- Missmatch für EBV (Spender positiv, Empfänger negativ) [16, 20],
- Phasen mit Intensivierung der Immunsuppression[19],
- multiple Verwendung von Thymozyten/Lymphozyten-Antikörpern [16, 19],
- Therapie mit Azathioprin [19]
- Therapie mit Tacrolimus [21]
- EBV-Infektionen unter Immunsuppression [16, 19, 21].

2.3.1 Diagnostik und Behandlung der PTLD

In einer umfassenden Analyse wurden im DHZB nach den ersten Erkrankungsfällen in 2001 ein systematisches „Screening“ für PTLD eingeführt. Es folgt eine systematische Analyse der Risikofaktoren für die Entwicklung einer PTLD, sowie Ansätze zur prä-emptiven Therapie. Dabei wurden neben dem routinemäßigen Viruslastmonitoring seit 2001 auch Strukturen zum Screening von Risikopatienten geschaffen. Aufgrund der gewonnenen Erkenntnisse erfolgte im Verlauf nach Risikostratifizierung eine Anpassung des zentrumsspezifischen immunsuppressiven Protokolls in den letzten Jahren. Es erfolgte eine Umstellung der Patienten mit einer Erhaltungstherapie von Azathioprin auf Mycophenolat-Mofetil (MMF; Cellcept®) oder einen mTOR-Inhibitor (Everolimus, Certican®). Aus diesen Ergebnissen resultierte auch die Vermeidung einer Induktionstherapie mit ATG (Thymoglobulin), an deren Stelle die Induktionstherapie mit Basiliximab (Simulect®) rückte. Auch wenn die Induktionstherapie mit ATG alleine keinen Einfluss auf das Risiko einer PTLD hat, ist die mehrfache Verwendung von mehr als 2 Gaben ATG in unserem Kollektiv ein deutlicher Risikofaktor für eine PTLD [19]. Man vermutet, dass „Memory“ und „regulatorische“ T-Zellen mit einer ATG Gabe evtl. längerfristig reduziert werden und damit das Risiko für eine viral getriggerte Entwicklung einer PTLD zunimmt. Mit der Vermeidung einer ATG-basierten Induktionstherapie besteht dann noch die Chance zur Behandlung einer akuten zellulären Abstoßung mit ATG, bei der auch mindestens 2-3 Gaben eingesetzt werden. Damit wäre die kumulative Exposition gegenüber T-Zell-Antikörpern für den Patienten

ten immer noch gesenkt und damit evtl. auch das Risiko für die Entwicklung einer PTLD.

In ausgewählten Patienten erfolgte auch eine präventive Therapie mit der Transmission autologer und EBV-spezifischer T-Zellen. Diese erfolgte in Kooperation mit Frau Prof. Dr. P. Reinke (Charité, Universitätsmedizin Berlin) und Dr. C. Rooney (Houston, USA) [16, 22]. Insgesamt erfolgte die Behandlung von fünf Patienten mit autologen EBV-spezifischen T-Zellen. Dabei war diese Therapieform durchaus erfolgreich und ermöglichte den Verzicht auf eine Chemotherapie bei einigen Patienten. Jedoch zeigten auch zwei Patienten im Verlauf nach 3,6 und 4,4 Jahren eine erneute lymphoproliferative Erkrankung.

Die Behandlung der meisten Patienten mit PTLD erfolgte nach einem standardisierten Protokoll in Zusammenarbeit mit den pädiatrischen Onkologen der Charité Universitätsmedizin Berlin und der Medizinischen Hochschule Hannover. Dabei erfolgte eine Dokumentation der Erkrankung und die Behandlung anhand eines multizentrischen Studienprotokolls des deutschen pädiatrischen Registers für PTLD (Ped-PTLD) [23].

Eine weitere Option ist die Anpassung der Immunsuppression in den Patienten mit einem Risiko für oder einem Z.n. PTLD. Dabei kann durch den Einsatz von mTOR-Inhibitoren wie z.B. Everolimus oder Sirolimus ein anti-Tumor Effekt genutzt werden zur Prävention einer erneuten Lymphoproliferation [5]. Das wesentliche Ziel dabei ist die Reduktion von Calcineurin-Inhibitoren (CNI) in diesen Patienten, was als CNI-sparendes oder evtl. auch CNI-freies Protokoll bezeichnet wird. Ob mTOR-Inhibitoren einen eigenständigen Vorteil in der Immunsuppression dieser Patienten bieten oder ob es vorwiegend durch die Reduktion/Elimination von CNI zu einer Reduktion von Nebenwirkungen kommt, muss erst noch in weiteren Studien geklärt werden.

**Diagnosis and treatment of post-transplantation
lymphoproliferative disorder in pediatric heart
transplant patients**

*Schubert S, Abdul-Khaliq H, Lehmkuhl HB, Yegitbasi M, Reinke P,
Kebelmann-Betzig C, Hauptmann K, Gross-Wieltsch U,
Hetzer R, Berger F*

Pediatr Transplant., 2009; 13 (1), 54-62.

2.4 Epstein-Barr-Virus (EBV) nach Herztransplantation

2.4.1 Monitoring des Epstein-Barr-Virus

Die Bestimmung der EBV-Last mittels quantitativer „Polymerase-chain-reaction“ (PCR) im Blut der Patienten ist ein bedeutsamer Parameter um die Aktivität des EBV und damit auch das Risiko für die Entstehung einer PTLD zu quantifizieren. Serologische Bestimmungen sind nicht aussagekräftig unter bestehender Immunsuppression. Bei der Mehrheit der herztransplantierten Kinder im Verlauf nach Transplantation lässt sich eine aktive Replikation von EBV im Blut nachweisen.

Zwischen 2001 und 2008 erfolgte eine systematische und prospektive Bestimmung der EBV-Last im Blut bei > 100 Kindern nach Herztransplantation mittels quantitativer PCR. Die EBV-Last war erhöht in Patienten mit einer PTLD vor und nach spezifischer Behandlung und sogar vor Entstehung eines Rezidives. Aufgrund dieser Daten erfolgte die Aufnahme der EBV-Last in die Nachsorge-Routine bei Kindern nach Herztransplantation. In vielen weiteren Studien wurde die Wertigkeit der EBV-Last nicht nur als Risikomarker sondern auch als Verlaufsparemeter bei allen Patienten nach Herztransplantation beschrieben [19, 24]. Die EBV-Last Bestimmung war in Deutschland bisher noch nicht standardisiert. Die Möglichkeit zur Bestimmung im Plasma, Serum, Vollblut, PBMC (peripheral blood mononuclear cells) und Sekreten (Speichel etc.) zeigt die Vielzahl der Möglichkeiten und auch der unterschiedlichen Bestimmungen auf. Daher sind EBV-Last Werte nicht immer gut vergleichbar. Zusätzlich gibt es deutliche Unterschiede in der Sensitivität und Spezifität der Methodik. Denn die Detektion im Plasma ist evtl. nur bei einer lytischen Replikation möglich, wobei ein negativer Befund im Sinne fehlenden lytischen Reaktion einen positiven und auch hohen EBV-Last Werte im Vollblut nicht ausschliesst. Ein verfügbarer Standard zur Bestimmung der realtime PCR für EBV ist die Namalwa Burkitt Lymphom Zell Linie, die wir in dieser Studie verwendet haben [19]. Eine Standardisierung der EBV-PCR ist für die Vergleichbarkeit der Messwerte jedoch weiterhin dringend erforderlich.

In den Studien konnte ein „cut-off“-Werte für die EBV-Last und einem damit verbundenen erhöhten Risikos für eine PTLD ermittelt werden.

2.4.2 Monitoring der EBV-spezifischen T-Zell-Antwort

In einer weiteren klinischen Studie erfolgte bisher neben der Viruslast auch das Monitoring von EBV-spezifischen CD8+ T-Zellen mittels Interferon basiertem Elispot, mit der Option, Patienten zu identifizieren, die unter Immunsuppression keine ausreichende spezifische Immunantwort bilden können. Die ersten Ergebnisse sind viel versprechend und zeigen in Patienten mit PTLD eine deutlich reduzierte spezifische T-Zell-Antwort gegen EBV. Diese Ergebnisse wurden bereits auf der Jahrestagung der Internationalen Gesellschaft für Herz-und Lungentransplantation (ISHLT) 2011 in San Diego vorgestellt [25].

Verweis of die Originalarbeit 4 (Seiten 43 – 48 der Habilitationsschrift):

Relationship of immunosuppression to Epstein-Barr viral load and lymphoproliferative disease in pediatric heart transplant patients

Schubert S, Renner C, Hammer M, Abdul-Khaliq H, Lehmkuhl HB,

Berger F, Hetzer R, Reinke P

J Heart Lung Transplant., (2008), 27 (1), 100-5.

2.5 Langzeitergebnisse nach Herztransplantation

2.5.1 Patientengruppe am Deutschen Herzzentrum Berlin (DHZB)

Die Langzeitergebnisse und Erfahrungen betreffend die Herztransplantation im Kindesalter des Deutschen Herzzentrum Berlin wurden 2011 in einer Publikation zusammengefasst [6]. Dabei stellt die Gruppe der Kinder mit einer Kardiomyopathie mit 139 (82%) Patienten die Hauptindikation für eine Herztransplantation dar und in nur 30 (18%) Patienten erfolgte die Herztransplantation aufgrund eines angeborenen Herzfehlers. Eine Überbrückung zur Herztransplantation erfolgte in 51 der Patienten mittels eines Unterstützungssystems (VAD), die mediane Unterstützungszeit betrug 37 (Range: 1–409) Tage. In 26 Patienten wurde ein Berlin Heart Excor® LVAD und 17 Patienten ein Berlin Heart Excor® BVAD implantiert; ebenfalls ein „bridging“ zur Herztransplantation erfolgte mit HeartWare® (n=3), PediVas bzw. Levitronix® (n=4) und Toyoba® pneumatic device (n=1).

2.5.2 Überleben nach pädiatrischer Herztransplantation

In einem Follow-up von bis zu 23 Jahren zeigte sich ein teils überdurchschnittliches Überleben der Patienten mit Z.n. pädiatrischer Herztransplantation am DHZB. 19 Patienten zeigten ein Überleben von > 15 Jahren nach Transplantation, 39 Patienten überlebten mehr als 10 Jahre und 80 Pat. mehr als 5 Jahre. Die frühe und späte Mortalität nach Herztransplantation im Kindesalter war bestimmt durch akute Abstoßungen, Transplantatvaskulopathie bzw. Graft-Versagen und dem Auftreten einer PTLD. Das mediane Überleben wurde unterschieden nach der Gruppe von Kindern mit einem angeborenen Herzfehler (AHF) vs. Kinder mit einer Kardiomyopathie (KMP): 11.3 (0–19.9 Jahre) vs. 7.0 (0–23) Jahre.

Das perioperative Überleben nach pädiatrischer Herztransplantation hat sich ständig verbessert und heute überlebt die Mehrheit der Patienten die Herztransplantation und die folgenden 5 Jahre. Nur 18/169 Patienten (10%) verstarben innerhalb der ersten 30 Tage nach Herztransplantation. Das akute Graftversagen direkt nach Transplantation, Blutungen aufgrund von Vor-Operationen oder Antikoagulation und ein Alter < 1 Jahr wurden als Risikofaktoren identifiziert.

Trotz zunehmender Anzahl von Patienten mit Unterstützungssystem (VAD) zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der frühen oder späten Mortalität von Patienten

mit oder ohne VAD [6]. Vor allem bei einer Analyse der Transplantationszeiträume zeigte sich eine verbesserte frühe und auch späte Mortalität in Patienten, welche nach 2000 transplantiert wurden. Unterschiede zwischen diesen Zeiträumen sind evtl. multifaktoriell bedingt, dabei spielen Zustand der Patienten vor der Transplantation, Behandlung einer möglicherweise grenzwertigen pulmonalen Hypertonie, Verbesserungen der perioperativen Therapie, Verbesserungen der Immunsuppression, Behandlung von akuten Abstoßungen sowie Veränderungen in der Nachsorge mit vor allem Detektion von Abstoßungen, Transplantatvaskulopathie und Tumoren eine mögliche Rolle.

2.5.3 Transplantatvaskulopathie (TVP)

Die Transplantatvaskulopathie (TVP) war ein wesentlicher Faktor für die späte Mortalität. 5 Jahre nach Herztransplantation waren 75% der Patienten ohne TVP, nach 10 Jahren nur noch 50% und nach 15 Jahren nur noch 25% der Patienten. Die TVP war mit einem Risikofaktor („Hazard ratio“) von 2.9 (95% CI 0.9 – 6.3) der bedeutsamste Faktor für das Überleben nach einer Herztransplantation.

2.5.4 PTLD

Die Inzidenz der PTLD betrug zum Zeitpunkt der Studie 11.8%, d.h. in 20/169 Patienten wurde eine PTLD diagnostiziert. Der Zeitpunkt der Diagnose erfolgte im Median nach 3.0 (0.2–12.8) Jahren, 8/20 (40%) Patienten verstarben im Verlauf an den Folgen oder der Behandlung einer PTLD im Mittel drei Jahre nach Diagnose.

Somit konnte in dieser Kohorte mit Pat. nach pädiatrischer Herztransplantation ein gutes und vor allem auch in den letzten Jahren noch verbessertes Überleben nachgewiesen werden. Ein wesentlicher Fokus liegt nun eher in der Vermeidung von Langzeitkomplikationen wie akuten Abstoßungen, der Transplantatvaskulopathie und auch der Entstehung von Tumoren [6].

Verweis of die Originalarbeit 5 (Seiten 52 – 58 der Habilitationsschrift):

Pediatric heart transplantation: 23-year single-center experience

Michael Huebler, Stephan Schubert, Hans Brendan Lehmkuhl,

Yuguo Weng, Oliver Miera, Vladimir Alexi-Meskishvili, Felix Berger

Roland Hetzer

Eur. J. Cardiothorac. Surg., May 2011; 39: e83 - e89.

3 Diskussion

Die Herztransplantation bleibt die Therapie der Wahl bei Kindern mit terminaler Herzinsuffizienz nach einer angeborenen oder erworbenen Herzmuskelschwäche oder aufgrund eines angeborenen Herzfehlers [26]. Eine Registrierung zur Herztransplantation erfolgt heute erst, wenn alle möglichen konservativen und chirurgischen Optionen einer Stabilisierung der Herzfunktion ausgeschöpft worden sind. Im Rahmen einer klinischen Verschlechterung des Patienten besteht heutzutage bei vielen Patienten eine Indikation zur Herzunterstützungstherapie mittels eines „Ventricular Assist-Device (VAD)“ [27]. Dieses ist durch die Verfügbarkeit des Berlin-Heart-Assist-Device® und Heartware® gewährleistet, welche neben der zeitlich begrenzten Unterstützung durch eine Extrakorporale Membranoxygenierung (ECMO) oder einer Kreiselpumpe, auch eine längerfristige Unterstützung der Patienten möglich machen [28, 29]. Die Wartezeit der Kinder für ein Spenderherz hat in den Jahren kontinuierlich zugenommen und damit wiederum auch das Risiko für Komplikationen während der Wartezeit [28, 30]. Daher gibt es zunehmend Berichte über Unterstützungszeiten > 365 Tage [29, 31]. Das ist vor allem durch einen zunehmenden Mangel an Spenderorganen erklärbar.

Trotz unterschiedlicher Bedingungen und unterschiedlich langer Wartezeit sind heute nach einer Herztransplantation im Kindesalter Überlebenszeiten von bis zu 20 Jahre möglich und werden auch von einigen Patienten bereits erreicht [6, 32].

Der Verlauf nach päd. Herztransplantation ist vor allem durch die Risiken einer akuten Abstoßungsreaktion, Entwicklung einer Transplantatvaskulopathie und der Entstehung von Tumoren (PTLD) bestimmt. Weitere Komplikationen sind möglich durch bakterielle Infektionen, diese sind aber vor allem assoziiert mit einer intensiven Immunsuppression und treten gehäuft in der frühen postoperativen Phase auf. Des Weiteren sind eine chronische Nierenfunktionsstörung ein Diabetis und die arterielle Hypertension mögliche Folgen der dauerhaften Immunsuppression mit CyA oder Prograf.

Da die meisten Patienten heutzutage die Herztransplantation überleben, ist vor allem die Überwachung dieser möglichen Langzeitkomplikationen entscheidend für die Langzeitprognose. Dabei sind einige Nebenwirkungen und Komplikationen durch eine evtl. frühzeitige Anpassung und Individualisierung der Immunsuppression evtl.

sogar vermeidbar. Im Vergleich zu früher stehen heutzutage mehrere ebenbürtige Immunsuppressiva zur Verfügung. Dadurch lässt sich die Immunsuppression individueller anpassen, ihre Effektivität steigern, aber auch potenzielle Nebenwirkungen vermeiden. Bei Kindern treten vor allem Veränderungen der Resorption und Metabolisation der Immunsuppressiva häufiger auf. Daher sind die Kontrollen der Blutspiegel teilweise frequenter notwendig, welches für die Kinder einen wesentlichen Stressfaktor darstellt.

Ein wesentlicher Fokus der Nachsorge liegt in der Überwachung der Grafffunktion mittels nicht-invasiver und invasiver Methoden. Dabei ist die Überwachung einer effektiven Immunsuppression durch Labortests und Spiegelbestimmungen („drug-monitoring“) indiziert [7]. Bis heute besteht leider noch nicht die Möglichkeit die immunsuppressive Funktion dieser Medikamente durch einen spezifischen Testes zu überwachen. Die Überwachung der Grafffunktion sollte durch eine Kombination aus Echokardiographie, EKG und intramyokardiales Elektrokardiogramm (IMEG) und die Herzkatheteruntersuchung erfolgen [33]. Dabei wird kontrovers diskutiert, ob eine Biopsiekontrolle zu definierten Zeitpunkten nach Transplantation sinnvoll erscheint oder nur bei Verdacht erfolgen sollte. Das Biopsie-Regime unterscheidet sich zwischen den transplantierenden Zentren und ist nicht standardisiert. Die Transplantatvaskulopathie lässt sich durch die Angiographie, IVUS und Histologie, aber auch durch die funktionale Testung mittels koronarer Flussreserve diagnostizieren [10]. Eine Behandlung der TVP bleibt schwierig und neben der Anpassung oder Umstellung der Immunsuppression besteht bei Kindern aufgrund von Wachstumsstörungen bisher nur eine eingeschränkte Möglichkeit zur Behandlung mit Statinen [34, 35]. Aber es gibt zunehmend Hinweise für eine Reduktion der Entwicklung einer TVP durch neuere Immunsuppression mittels mTOR-Inhibitoren, diese Wirkung ist aber derzeit in den Studien noch nicht eindeutig belegt [34, 36].

Die Behandlung einer akuten Abstoßung erfolgt in Abhängigkeit von der Histologie mit Intensivierung der Immunsuppression und ggf. durch zusätzliche Steroide oder Lymphozytenantikörper. Es gibt Patienten, die rezidivierende Abstoßungsepisoden durchlaufen und Patienten, die im gesamten Verlauf keine Abstoßung aufweisen. Bei Kindern spielen neben den altersabhängigen immunologischen Faktoren vor allem rezidivierende Infektionen als „Trigger“ einer möglichen Abstoßung eine wesentliche Rolle. Alleine durch die Exposition gegenüber den normalen Kinderkrankheiten be-

steht bei Kindern eine deutliche höhere Frequenz von Infektionen und damit für immunologische Veränderungen. Abhängig von der Art und Intensität der Immunsuppression besteht vor allem bei Kindern ein erhöhtes Risiko für persistierende virale Infektionen mit vor allem CMV und EBV. Dabei ist die CMV-Infektion zwar mit Ganciclovir behandelbar, aber sie impliziert auch ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer Transplantatvaskulopathie [34]. EBV besitzt aber ein onkogenes Potential und damit entstehen häufig EBV-assoziierte Lymphoproliferationen (PTLD). Die PTLD stellte inzwischen einen wesentlichen Faktor dar für das Überleben nach Herztransplantation und die Inzidenz steigt mit zunehmenden Jahren nach Herztransplantation. Die frühe Erkennung und Behandlung der PTLD ist ein entscheidender Faktor. Es wird ein regelmäßiges Monitoring der Virusaktivität mittels EBV-Last und eine Anpassung der Immunsuppression empfohlen. Bei Verdacht auf eine PTLD oder eine erhöhte EBV-Last empfehlen sich regelmäßige Screening-Untersuchungen z.A. einer PTLD mittels Labor, Ultraschalluntersuchungen und ggf. weiterer Bildgebung. Für die adäquate Behandlung ist die histologische Sicherung entscheidend. Eine EBV- und CD20-positive PTLD wird heutzutage mittels Antikörpertherapie (Rituximab) nach einem standardisierten Protokoll behandelt. Dabei ist es sinnvoll, eine Analyse dieser Patienten und des „Outcomes“ in multizentrischen Studien durchzuführen. Eine weitere und zunehmende Herausforderung stellen die Patienten mit einem Zweitumor oder Rezidiv dar. Hier wäre der Nachweis einer Effektivität durch eine zusätzliche immunologische Therapie mit z.B. Transfer autologer und spezifischer T-Zellen wünschenswert. Die Umstellung der Immunsuppression bei allen Patienten mit einem Risiko für PTLD und Niereninsuffizienz sollte im Verlauf nach Herztransplantation immer wieder diskutiert werden. Zunehmende Datenmengen deuten auch auf eine Möglichkeit zur Reduktion des CNI (CyA und Prograf) hin. Möglicherweise ist sogar ein CNI-freies Protokoll in einigen und selektierten Patienten mit Abstand zur Herztransplantation möglich [5, 16, 37]. Dies alles sollte zu einer weiteren Verbesserung des Überlebens nach Herztransplantation im Kindesalter beitragen.

4 Zusammenfassung

Die Herztransplantation (HTx) bleibt die Therapie der Wahl bei Kindern mit terminaler Herzinsuffizienz. Seit Beginn der Kinderherztransplantation haben sich die Überlebenschancen nach einer Herztransplantation ständig verbessert und vor allem die perioperative Mortalität ging zurück. Durch die reduzierte Verfügbarkeit von Spenderorganen stieg die Wartezeit der Kinder für ein Herz in den letzten Jahren signifikant an. Die lange Wartezeit kann heute vor allem durch die Verfügbarkeit von Herzunterstützungssystemen (VAD) überbrückt werden. Kinder nach Herztransplantation überleben heute bis zu 20 Jahren mit einem Organ. Dabei ist die Möglichkeit für Komplikationen vor allem bedingt durch Effektivität aber auch Nebenwirkungen der Immunsuppression. Die wichtigsten Graft-bezogenen Probleme nach Herztransplantation im Kindesalter sind die Transplantatvaskulopathie und die akute Abstoßung, die zu einer Dysfunktion des Transplantats führen. Die Entstehung von Lymphoproliferationen und Tumoren (PTLD) sind vor allem bei Kindern ein bedeutsamer Mortalitäts- und Morbiditätsfaktor im Früh- und Langzeitverlauf. Zusätzliche Nebenwirkungen einer lebenslangen Immunsuppression sind die arterielle Hypertonie, die chronische Niereninsuffizienz und infektiologische Probleme mit vor allem persistierenden viralen Infektionen. Durch eine individualisierte Immunsuppression lassen sich heute durch die Auswahl der Immunsuppressiva und deren Intensität Nebenwirkungen reduzieren ohne die Effektivität zu gefährden. Das Monitoring der Immunsuppression sollte neben der Blutspiegelbestimmung, auch perspektivisch funktionale Test mit Detektion der zellulären immunsuppressiven Wirkung beinhalten. Bei Patienten mit einer stabilen Immunfunktion und bei Abwesenheit von Abstoßungen kann die Immunsuppression evtl. frühzeitig reduziert werden. Die Graftfunktion muss regelmäßig überwacht werden mittels EKG, IMEG und Echokardiographie als non-invasives Monitoring. Eine invasive Diagnostik mittels Koronarangiographie und Biopsie ist ebenfalls im Intervall oder bei Verdacht auf eine akute Abstoßung weiterhin unverzichtbar. Verbesserungen der Immunsuppression und der Einsatz von mTOR-Inhibitoren, sowie Vermeidung von Lymphozyten-Antikörpern, Prograf und Azathioprin sollte die Indizienz der PTLD positiv beeinflussen. Damit sollten langfristig sowohl die Überlebenschancen der Patienten als auch der transplantierten Herzen verbessert werden.

5 Literatur

1. Barnard, C.N., The operation: A human cardiac transplant: an interim report of a succesful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town. *S. Afr. Med. J.*, 1967. 41(48): p. 1271-1274.
2. Kantrowitz, A., et al., Transplantation of the heart in an infant and an adult. *Am J Cardiol*, 1968. 22: p. 82-90.
3. Haverich, A., et al., The place of heart transplantation: the German experience. *Eur Heart J*, 1987. 8 Suppl F: p. 36-7.
4. Hetzer, R., et al., Heart transplantation - a two year experience. *Z Kardiol.*, 1985. 74(Suppl. 6): p. 51-58.
5. Epailly, E., et al., Proliferation signal inhibitors and post-transplant malignancies in heart transplantation: practical clinical management questions. *Clin Transplant*, 2011. 25(5): p. E475-E486.
6. Huebler, M., et al., Pediatric heart transplantation: 23-year single-center experience. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2011. 39(5): p. e83-9.
7. Schubert, S., et al., Advantages of C2 monitoring to avoid acute rejection in pediatric heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant*, 2006. 25(6): p. 619-25.
8. Perens, G., et al., Clinico-pathologic findings in end-stage pediatric heart transplant grafts. *Pediatr Transplant*, 2009. 13(7): p. 887-91.
9. Hiemann, N.E., et al., Prognostic impact of microvasculopathy on survival after heart transplantation: evidence from 9713 endomyocardial biopsies. *Circulation*, 2007. 116(11): p. 1274-1282.
10. Schubert, S., et al., Coronary flow reserve measurement detects transplant coronary artery disease in pediatric heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant*, 2008. 27(5): p. 514-21.
11. Sachdeva, R., P.M. Seib, and E.A. Frazier, Percutaneous coronary intervention using drug-eluting stents in pediatric heart transplant recipients. *Pediatr Transplant*, 2009. 13(8): p. 1014-9.

12. Hathout, E., et al., Cardiac allograft vasculopathy in pediatric heart transplant recipients. *Transpl Int*, 2006. 19(3): p. 184-9.
13. Johnson, D.E., et al., Transplant coronary artery disease: histopathologic correlations with angiographic morphology. *J Am Coll Cardiol*, 1991. 17(2): p. 449-57.
14. Doucette, J.W., et al., Validation of a Doppler guide wire for intravascular measurement of coronary artery flow velocity. *Circulation*, 1992. 85(5): p. 1899-911.
15. Rigo, F., et al., The additional prognostic value of coronary flow reserve on left anterior descending artery in patients with negative stress echo by wall motion criteria. A Transthoracic Vasodilator Stress Echocardiography Study. *Am Heart J*, 2006. 151(1): p. 124-30.
16. Schubert, S., et al., Diagnosis and treatment of post-transplantation lymphoproliferative disorder in pediatric heart transplant patients. *Pediatr Transplant*, 2009. 13(1): p. 54-62.
17. Kirk, R., et al., The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: thirteenth official pediatric heart transplantation report--2010. *J Heart Lung Transplant*. 29(10): p. 1119-28.
18. Webber, S.A., et al., Lymphoproliferative disorders after paediatric heart transplantation: a multi-institutional study. *Lancet*, 2006. 367(9506): p. 233-9.
19. Schubert, S., et al., Relationship of immunosuppression to Epstein-Barr viral load and lymphoproliferative disease in pediatric heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant*, 2008. 27(1): p. 100-5.
20. Mendoza, F., et al., Post-transplant lymphoproliferative disorder following pediatric heart transplantation. *Pediatr Transplant*, 2006. 10(1): p. 60-6.
21. Dayton, J.D., et al., Role of immunosuppression regimen in post-transplant lymphoproliferative disorder in pediatric heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant*, 2011. 30(4): p. 420-5.
22. Savoldo, B., et al., Treatment of solid organ transplant recipients with autologous Epstein Barr virus-specific cytotoxic T lymphocytes (CTLs). *Blood*, 2006. 108(9): p. 2942-2949.

23. Maecker, B., et al., CNS or bone marrow involvement as risk factors for poor survival in post-transplantation lymphoproliferative disorders in children after solid organ transplantation. *J Clin Oncol*, 2007. 25(31): p. 4902-8.
24. Bingler, M.A., et al., Chronic high Epstein-Barr viral load state and risk for late-onset posttransplant lymphoproliferative disease/lymphoma in children. *Am J Transplant*, 2008. 8(2): p. 442-5.
25. Schubert, S., et al., Monitoring of Specific Anti-EBV CD8+ T-Cell Activity Identifies Transplanted Patients with Reduced Cellular Control of EBV and Increased Risk for PTLN, in *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2011. p. S83.
26. Schowengerdt, K.O., Advances in pediatric heart transplantation. *Curr Opin Pediatr*, 2006. 18(5): p. 512-7.
27. Bastardi, H.J., et al., Ventricular assist devices as a bridge to heart transplantation in children. *J Cardiovasc Nurs*, 2008. 23(1): p. 25-9.
28. Cassidy, J., et al., Changing patterns of bridging to heart transplantation in children. *J Heart Lung Transplant*, 2009. 28(3): p. 249-54.
29. Miera, O., et al., First experiences with the HeartWare ventricular assist system in children. *Ann Thorac Surg*, 2011. 91(4): p. 1256-60.
30. Almond, C.S., et al., Waiting list mortality among children listed for heart transplantation in the United States. *Circulation*, 2009. 119(5): p. 717-27.
31. Schneider, S.R., et al., Limitations of high urgency listing--ventricular assist device support in a neonate for 452 days. *Thorac Cardiovasc Surg*, 2010. 58 Suppl 2: p. S194-7.
32. Anthony, S.J., S. Pollock Barziv, and V.L. Ng, Quality of life after pediatric solid organ transplantation. *Pediatr Clin North Am*, 2010. 57(2): p. 559-74, table of contents.
33. Hetzer, R., et al., Daily noninvasive rejection monitoring improves long-term survival in pediatric heart transplantation. *Ann Thorac Surg*, 1998. 66(4): p. 1343-9.
34. Wang, S.S., Treatment and prophylaxis of cardiac allograft vasculopathy. *Transplant Proc*, 2008. 40(8): p. 2609-10.

35. Dipchand, A.I., et al., A prospective study of dobutamine stress echocardiography for the assessment of cardiac allograft vasculopathy in pediatric heart transplant recipients. *Pediatr Transplant*, 2008. 12(5): p. 570-6.
36. Valantine, H., Prevention of cardiac allograft vasculopathy with Certican (everolimus): the Stanford University experience within the Certican Phase III clinical trial. *J Heart Lung Transplant*, 2005. 24(4 Suppl): p. S191-5; discussion S210-1.
37. Mahle, W.T., R.N. Vincent, and K.R. Kanter, Cardiac retransplantation in childhood: analysis of data from the United Network for Organ Sharing. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2005. 130(2): p. 542-6.

Danksagung

Ein besonderer Dank gilt meiner Familie für das uneingeschränkte Verständnis und die immerwährende Unterstützung meiner Habilitation. Meiner Tochter Josephine danke ich für die auflockernden Ablenkungen.

Ich danke meinem Chef Prof. Dr. Felix Berger für die außerordentliche Unterstützung und Förderung meiner klinischen und wissenschaftlichen Tätigkeit.

Ein weiterer Dank gilt denen, durch die oder mit denen ich experimentelle Kenntnisse erwerben und vielfältige gemeinsame Forschungsprojekte durchführen durfte: Prof. Dr. Hashim Abdul-Khaliq, Prof. Dr. Gisela Stoltenburg-Didinger, Prof. Dr. Peter E. Lange, PD Dr. Peter Ewert und Prof. Dr. Roland Hetzer.

Weiterhin danke ich meinen Kollegen/-innen für eine einzigartige Kooperation und Zusammenarbeit im Rahmen gemeinsamer Forschungsvorhaben und Projekte. Stellvertretend möchte ich namentlich folgende Personen aufführen: Dr. Christiane Renner, Wolfgang Böttcher, Dr. Michael Hübler, Wolfgang Böttcher, Prof. Dr. Brigitte Stiller, Dr. Thilo Fleck und PD Dr. Hans Lehmkuhl.

Erklärung

Eidesstattliche Erklärung gemäß Habilitationsordnung der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren angemeldet oder durchgeführt wurde,
die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen oder Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften und die Literatur vollständig angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist

November 2011,

Stephan Schubert