

Aus der Klinik für Chirurgie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Einfluss spenderspezifischer Antikörper auf das
Lebertransplantat im Langzeitverlauf

Impact of donor specific antibodies on the liver graft in long-
term course

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Henriette Hegermann

Datum der Promotion: 03.03.2023

Vorwort

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht in: Gül-Klein S, Hegermann H, Röhle R, Schmelzle M, Tacke F, Schöning W, Öllinger R, Dziodzio T, Maier P, Plewe JM, Horst D, Sauer IM, Pratschke J, Lachmann N, Eurich D. Donor-Specific Antibodies Against Donor Human Leukocyte Antigen are Associated with Graft Inflammation but Not with Fibrosis Long-Term After Liver Transplantation: An Analysis of Protocol Biopsies. *J Inflamm Res.* 2021 Jun 23;14:2697-2712. doi: 10.2147/JIR.S307778. PMID: 34188517; PMCID: PMC8236257/ 23.06.2021. Abbildungen und Tabellen wurden abgeändert sowie die Referenzen zum Paper entsprechend gekennzeichnet.

Mein Anteil an dieser Publikation lag in der Datenakquise sowie -analyse und in der Beteiligung an der Artikelverfassung.

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	II
Tabellenverzeichnis	V
Abbildungsverzeichnis	VI
Abkürzungsverzeichnis	VII
Abstrakt	IX
Abstract	XI
1. Einleitung	1
1.1 Herausforderungen im Langzeitverlauf nach Lebertransplantation	1
1.2 Humorale Alloreaktivität nach Lebertransplantation	2
1.3 Follow-up nach Lebertransplantation	5
1.4 Fragestellung und Zielsetzung	6
2. Material und Methoden	7
2.1 Patient*innen	7
2.2 Datenerhebung	8
2.3 Transplantationsimmunologische Labormethoden	12
2.4 Statistische Auswertung	13
3. Ergebnisse	17
3.1 Beschreibung des Patient*innenkollektivs	17
3.1.1 Krankheitsgenese und Transplantationsindikation	17
3.1.2 Alter und BMI zum Zeitpunkt der Nachsorge	18
3.1.3 Status der Antikörper im Patient*innenserum	18
3.1.4 Immunsuppression – Präparate, Dosierungen, Spiegel	18
3.1.5 Zustand nach HCC	19
3.1.6 Auswertung der Biopsien	20
3.2 Beschreibung des Spender*innenkollektivs	22
3.3 Auswertung der Patient*innencharakteristika	23
3.3.1 Assoziation mit HLA-Antikörpern	23

3.3.2 Assoziation mit DSA	26
3.4 Auswertung der Spender*innencharakteristika	27
3.4.1 Assoziation mit HLA-Antikörpern	27
3.4.2 Assoziation mit DSA	27
3.5 Auswertung der Immunsuppression	28
3.5.1 Assoziation mit HLA-Antikörpern	28
3.5.2 Assoziation mit DSA	30
3.6 Auswertung der histopathologischen Parameter	31
3.6.1 Assoziation mit HLA-Antikörpern	31
3.6.2 Assoziation mit DSA	32
3.6.3 Logistische Regressionsanalyse	33
3.7 Auswertung der Laborwerte	35
3.7.1 Einfluss der HLA-Antikörper	35
3.7.1.1 Transaminasen	35
3.7.1.2 Cholestaseparameter	37
3.7.1.3 Kreatinin und INR	39
3.7.2 Einfluss der DSA	41
3.7.2.1 Transaminasen	41
3.7.2.2 Cholestaseparameter	43
3.7.2.3 Kreatinin und INR	45
4. Diskussion	48
4.1 Einordnung der Ergebnisse	48
4.2 Fazit, Limitationen und Ausblick	54
Literaturverzeichnis	57
Eidesstattliche Versicherung	66
Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen	67
Lebenslauf	68
Publikationsliste	68
Danksagung	71
Bescheinigung Statistik	72

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Kodierung der histopathologischen Daten	10
Tabelle 2: Einteilung der histopathologischen Kriterien	10
Tabelle 3: Gruppierung der Dosierungen bzw. Talspiegel der immunsuppressiven Medikation.....	12
Tabelle 4: Empfänger*innencharakteristika	16
Tabelle 5: Immunsuppression der Empfänger*innen.....	20
Tabelle 6: Histologische Parameter der Leberbiopsien	22
Tabelle 7: Spender*innencharakteristika	23
Tabelle 8: Assoziation der Patient*innencharakteristika mit HLA-Ak und DSA	25
Tabelle 9: Assoziation der Spender*innencharakteristika mit HLA-Ak und DSA	28
Tabelle 10: Assoziation der Immunsuppression der Empfänger*innen mit HLA-Ak und DSA.....	30
Tabelle 11: Assoziation der histopathologischen Parameter mit HLA-Ak und DSA	32
Tabelle 12: Logistische Regression für das Merkmal Fibrose	33
Tabelle 13: Logistische Regression für das Merkmal Steatose	34
Tabelle 14: Logistische Regression für das Merkmal Maschendrahtfibrose.....	34
Tabelle 15: Logistische Regression für das Merkmal Inflammation.....	34

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: ALT in U/l zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom HLA-Ak Vorkommen.....	35
Abbildung 2: AST in U/l zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom HLA-Ak Vorkommen.....	36
Abbildung 3: AP in U/l zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom HLA-Ak Vorkommen.....	37
Abbildung 4: GGT in U/l zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom HLA-Ak Vorkommen.....	38
Abbildung 5: Bilirubin in mg/dl zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom HLA-Ak Vorkommen	39
Abbildung 6: Kreatinin in mg/dl zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom HLA-Ak Vorkommen	40
Abbildung 7: INR zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom HLA-Ak Vorkommen.....	41
Abbildung 8: ALT in U/l zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom DSA Vorkommen.....	42
Abbildung 9: AST in U/l zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom DSA Vorkommen.....	43
Abbildung 10: AP in U/l zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom DSA Vorkommen.....	44
Abbildung 11: GGT in U/l zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom DSA Vorkommen.....	44
Abbildung 12: Bilirubin in mg/dl zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom DSA Vorkommen.....	45
Abbildung 13: Kreatinin in mg/dl zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom DSA Vorkommen.....	46
Abbildung 14: INR zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom DSA Vorkommen	47

Abkürzungsverzeichnis

95%-KI	95%-Konfidenzintervall
AFP	Alpha-1-Fetoprotein
AIH	Autoimmunhepatitis
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
AST	Aspartat-Aminotransferase
BMI	Body Mass Index
ICC	Intrahepatisches Cholangiokarzinom
CNI	Calcineurininhibitor
CyA	Ciclosporin A
DSA	Donorspezifische Antikörper
ELISA	Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay
EVR	Everolimus
GGT	Gamma-Glutamyltransferase
HBV	Hepatitis B Virus
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HCV	Hepatitis C Virus
HDV	Hepatitis D Virus
HLA-Ak	Humanes Leukozyten Antigen-Antikörper
IgG	Immunglobulinklasse G
INR	International Normalized Ratio
IPTH	Idiopathische Transplantationshepatitis
ITBL	Ischemic Type Biliary Lesions
ITS	Intensivstation
JÜR	Jahres-Überlebensrate
LT	Lebertransplantation
MFI	Mittlere Fluoreszenzintensität
MMF	Mycophenolat-Mofetil
mTORi	Mammalian Target of Rapamycin-Inhibitoren
MWU	Mann-Whitney-U
NAS	Nicht-anastomotische Gallengangsstenose

NASH..... Nicht-alkoholische Steatohepatitis
OR..... Odds Ratio
PAS..... Periodsäure-Schiff-Reaktion
PBC..... Primär biliäre Zirrhose
PE..... R-Phycoerythrin
PSC..... Primär sklerosierende Cholangitis
Re-LT..... Re-Transplantation
SD..... Standardabweichung
SubTCMR..... Subklinische T-Zell vermittelte Rejektion
Tac..... Tacrolimus

Abstrakt

Einleitung: Trotz großer Fortschritte in der Transplantationsmedizin stagniert die 10-Jahresüberlebensrate nach Lebertransplantation (LT) seit zwei Jahrzehnten bei 55-60%. Die Alloreaktivität und ihre Auswirkungen auf die Mortalität der Patient*innen, werden unter anderem als ursächlich diskutiert. Das Ziel unserer Arbeit war, den Einfluss donorspezifischer Antikörper (DSA) auf das Lebertransplantat, durch Auswertung von Protokollbiopsien, zu untersuchen.

Methodik: Wir werteten retrospektiv eine Querschnittsanalyse aus, welche von Januar 2017 bis Juni 2018 durchgeführt wurde. Alle Empfänger*innen waren in der Lebertransplantationsambulanz der Chirurgischen Klinik am Campus Virchow Klinikum der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Nachsorge angebunden. Die Patient*innen waren zwischen Dezember 1988 und Oktober 2017 transplantiert worden. Neben einer laborchemischen Antikörperuntersuchung des Serums der Patient*innen auf HLA-Antikörper (HLA-Ak) und DSA, wurde eine Routine-Leberbiopsie durchgeführt. Hierbei wurden standardisiert histopathologische Merkmale (Fibrose, Inflammation, Steatose, Hämosiderose und Maschendrahtfibrose) erhoben und Assoziationen zwischen den Charakteristika statistisch untersucht.

Ergebnisse: Eine Untersuchung von insgesamt 291/271 Patient*innen auf HLA-Ak/DSA, zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von HLA-Ak ($p=0,017$) und DSA ($p=0,019$) und höheren Inflamationsgraden im Transplantat. Eine multivariate logistische Regression konnte die Ergebnisse verifizieren (OR: 4,43; 95%-KI: 2,67-12,6; $p=0,0035$). Außerdem wurde ein signifikant protektiver Effekt durch mTOR-Inhibitoren, wie Everolimus, auf den Antikörperstatus ermittelt (HLA-Ak: $p=0,014$; DSA: $p=0,025$). Es wurde eine geringere Rate an HLA-Ak bei einem hepatozellulären Karzinom in der Vorgeschichte ($p=0,014$) oder HLA-Ak und DSA bei einer viralen Ätiologie der ursprünglichen Lebererkrankung (HLA-Ak: $p=0,008$; DSA: $p=0,008$) und bei einem höherem Verfettungsgrad im Transplantat (HLA-Ak: $p=0,029$; DSA: $p=0,044$) beobachtet. Eine Auswertung laborchemischer Parameter ergab einen negativen Einfluss, respektive eine Laborwerterhöhung, der DSA auf Transaminasen (ALT: $p=0,042$; AST: $p=0,009$), GGT ($p=0,007$) und Bilirubin ($p<0,001$). HLA-Ak waren assoziiert mit einer Laborwerterhöhung des Bilirubins im Serum ($p=0,006$).

Schlussfolgerung: Wir fanden einen Zusammenhang zwischen den Antikörpern und einem histologisch und laborchemisch messbaren, negativen inflammatorischen Einfluss

auf das Transplantat. Diese Ergebnisse müssen in zukünftigen Studien an größeren Kollektiven von Patient*innen und über längere Beobachtungszeiträume untersucht werden. Es müssen spezifische Subgruppenanalysen erfolgen, um eine Assoziation zu speziellen Merkmalen und eventuelle assoziierte Formen der Therapie zu eruieren.

Abstract

Introduction: Despite major advances in transplant medicine, the 10-year survival rate after liver transplantation (LT) has stagnated at 55-60% for two decades. Alloreactivity and its impact on patient mortality are discussed as causal factors. These remain unclear. The aim of our work was to evaluate the influence of donor specific antibodies (DSA) on the liver graft by objectifying the graft condition using protocol biopsies.

Methods: We performed a retrospective evaluation of a cross-sectional analysis from January 2017 and June 2018. All recipients were followed up in the liver transplant outpatient clinic of the Department of Surgery at the Campus Virchow Klinikum of the Charité – Universitätsmedizin Berlin. The patients were transplanted between December 1988 and October 2017. In addition to laboratory antibody testing of the patients' serum for HLA antibodies (HLAab) and DSA, a routine liver biopsy was performed, histopathological characteristics (fibrosis, inflammation, steatosis, hemosiderosis, and mesh fibrosis) were collected, and associations between the characteristics were statistically investigated.

Results: In an examination of 291/271 patients for HLAab/DSA, a significant association was observed between higher levels of inflammation in the graft and the incidence of HLAab ($p=0,017$) and DSA ($p=0,019$). Multivariate logistic regression was able to verify the results (OR: 4,43; 95%-CI: 2,67-12,6; $p=0,0035$). In addition, a significant protective effect by mTOR-inhibitors, such as everolimus, on antibody status was determined (HLAab: $p=0,014$; DSA: $p=0,025$) as well as a lower rate of HLAab in the presence of a history of hepatocellular carcinoma ($p=0,014$) or HLAab and DSA in the presence of a viral etiology of the original liver disease (HLAab: $p=0,008$; DSA: $p=0,008$) and a higher degree of steatosis in the graft (HLAab: $p=0,029$; DSA: $p=0,044$). An evaluation of laboratory parameters showed a negative influence of DSA on transaminases (ALT: $p=0,042$; AST: $p=0,009$), GGT ($p=0,007$) and bilirubin ($p<0,001$). HLAab were associated with laboratory elevation of serum bilirubin ($p=0,006$).

Conclusion: We found an association between the antibodies and a histologically and laboratory measurable negative inflammatory influence on the graft. These results need to be confirmed in future studies using larger patient populations and longer observation periods. Specific subgroups need to be studied to determine association with specific characteristics and possible forms of therapy.

1. Einleitung

1.1 Herausforderungen im Langzeitverlauf nach Lebertransplantation

Eine Lebertransplantation (LT) gilt für die Empfänger*innen als einzige Kuration einer Lebererkrankung im Endstadium.

Seit der ersten, in 1963 durch Thomas E. Starzl durchgeführten LT zeigt sich ein progredienter Anstieg der 1-Jahres-Überlebensrate (JÜR) (1). Von 29% zwischen 1963 und 1977 zu etwa 90% in 2018 (2,3).

Die Auswertung aktueller Daten der Charité – Universitätsmedizin Berlin zeigen 1-JÜR von 90,4%, 5-JÜR von 79,6% und 10-JÜR von 70,3% (4). International stagniert die 10-JÜR seit etwa 20 Jahren bei ca. 55-60% (5–7).

Häufige Gründe für die Langzeitsterblichkeit sind kardiovaskuläre Vorfälle, maligne Erkrankungen, ein Nieren- oder Transplantatversagen sowie das Auftreten von Infektionen. Ein Versagen des Transplantates ist hierbei als nachrangiger Mortalitätsgrund einzuordnen (8,9).

Die Langzeit-Transplantatdysfunktion kann durch unterschiedliche Ursachen induziert werden. Unter anderem die chronisch duktopene Abstoßung mit einer auf den Verlust der kleinen Gallenwege folgenden Cholestase als histologisches Korrelat (10). Die schleichende histopathologische Entwicklung dieser Entität erschwert eine frühzeitige Diagnosestellung (11). Eine suffiziente Behandlungsmöglichkeit ist die standardisierte immunsuppressive Medikation, Tacrolimus (Tac) in Kombination mit Mycophenolat-Mofetil (MMF). Eine duale Immunsuppression mit Tac und MMF führt dazu, dass nur 5% aller Organverluste auf die duktopenische Abstoßung zurückzuführen sind (7,12). Als prädisponierend gelten rezidivierende, speziell steroidresistente akute Rejektionen sowie vorherige Episoden chronischer Abstoßungen mit konsekutiver Re-Transplantation (Re-LT) und zu gering dosierte Immunsuppressiva bzw. eine fehlende Adhärenz der Patient*innen (7). Allerdings berichten aktuelle Studien, wie Saidy et al. (2021) von einem Überlebensvorteil durch eine Reduktion der immunsuppressiven Medikation nach LT (13).

Weitere Gründe für einen Graft-Verlust im Langzeitverlauf sind die idiopathische Posttransplantationshepatitis (IPTH) und die De-novo-Autoimmunhepatitis (AIH), die eher im pädiatrischen Kontext nach LT auftreten (7).

Grundsätzlich kann die Grunderkrankung rezidivieren und eine erneute Dysfunktion des Transplantats induzieren. Besonders relevant sind hier unter anderem die AIH, die Primär

sklerosierende Cholangitis (PSC), die Primär biliäre Zirrhose (PBC), das hepatozelluläre Karzinom (HCC) sowie infektiös bedingte Hepatitiden der Leber (10,14).

1.2 Humorale Alloreaktivität nach Lebertransplantation

Humane Leukozytenantigene (human leukocyte antigen, HLA) sind auf den meisten kernhaltigen Zellen exprimiert und verhelfen dem Immunsystem, durch die Peptidbindung und -präsentation, zwischen körpereigenen und -fremd unterscheiden zu können (15). Die HLA-Moleküle der Klasse I sind auf der Oberfläche aller kernhaltigen Zellen und werden von Genen der Genorte HLA-A, -B und -C auf Chromosom 6 kodiert. HLA-Moleküle der Klasse II werden dagegen nur auf Antigen-präsentierenden Zellen, wie B-Lymphozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen exprimiert. Eine Unterscheidung der Genorte HLA-DR, -DQ und -DP findet statt. Der Polymorphismus, der innerhalb dieser Genregionen vorherrscht, bedingt, dass die Übereinstimmungen zwischen den HLA-Molekülen zweier nicht verwandter Individuen relativ gering sind (15–18). Eine Organtransplantation und besonders die LT kann unter anderem zu einer humoralen Alloreaktivität des*der Organempfänger*in in Form von Antikörpern, gerichtet gegen die nicht kompatiblen HLA-Moleküle des*der Spender*in führen. Die sogenannten HLA-Ak gehören primär zur Immunglobulinklasse G (IgG) und können nicht nur im Rahmen einer Transplantation, sondern auch in Folge von Bluttransfusionen und Schwangerschaften entstehen (15,19,20).

Als donorspezifische HLA-Antikörper (DSA) werden die Antikörperspezifitäten bezeichnet, die sich gegen die HLA-Antigene eines gespendeten Organs richten. Der Nachweis erfolgt durch die Analyse des Serums des*der Empfänger*in. Präformierte DSA bestehen vor Transplantation. Post transplantationem auftretende DSA werden als de-novo DSA bezeichnet (15).

DSA als Auslöser von humoralen Abstoßungsreaktionen im Bereich der Nierentransplantation sind bereits länger bekannt und anerkannt (21). Der Einfluss von DSA auf andere Organtransplantate ist bestätigt. Witt et al. wies negative Auswirkungen, in Form einer Abstoßung des Transplantats, bei lungentransplantierten Patient*innen nach (22). Auswertungen von de Kort et al. zeigten ein geringeres Transplantatüberleben im Bereich der Pankreastransplantation bei Nachweis von DSA (23). Rejektionen in Verbindung mit DSA nach Transplantation des Herzens und anderen Organsystemen werden in der Fachliteratur beschrieben (24–27).

Die antikörpervermittelte Transplantatabstoßung im Bereich der LT bleibt umstritten. Lange Zeit wurde vermutet, dass präformierte DSA und HLA-Inkompatibilitäten keinen Einfluss auf das Langzeitüberleben nach LT haben bzw. einen wesentlich geringeren als auf Herz- und Nierentransplantate (28–31). Zurückzuführen ist diese Annahme auf die spezielle Anatomie der Leber - mit zwei versorgenden Blutkreisläufen, einem arteriellen und einem portalen sowie einer prägnanten Größe im Vergleich zu anderen Organen (32–34). Weiterhin bedingt die Fähigkeit der Leber, Antikörper durch die Freisetzung löslicher Klasse I HLA-Moleküle und eine folgende Komplexbildung unschädlich zu machen, vermutlich eine fehlende Relevanz humoraler Abstoßungen im Bereich der LT (32,33,35). Eine Studie von Abu-Elmagd et al. aus 2012 ergab entsprechend einen protektiven Effekt bei Multiviszeraltransplantationen durch eine mittransplantierte Leber, wenn persistierende oder de-novo DSA bei den Patient*innen vorhanden waren (36).

Verbesserte Nachweismethoden der DSA lösen ein größeres Bewusstsein für die schon länger bei ABO-Inkompatibilität beobachteten antikörpervermittelten Abstoßungen nach LT aus (25,37). Insgesamt bestehen geringere Inzidenzen für hyperakute oder akute Abstoßungen nach LT im Vergleich zu Herz- und Nierentransplantation. Möglicherweise trägt dieser Sachverhalt dazu bei, eine Relevanz dieser Krankheitsgenese zu unterschätzen (38,39).

Grundsätzlich findet eine Unterscheidung der antikörpervermittelten Abstoßungen in akut und chronisch statt (40). Die akute Form präsentiert sich durch eine frühzeitig nach Transplantation entstehende Dysfunktion der Leber, die in der Regel durch die Präsenz zirkulierender und präformierter Klasse I und/oder II DSA induziert wird. Diese Entität prädisponiert für einen Transplantatverlust (41). Die diagnostischen Kriterien dieser akuten Abstoßungsreaktion wurden 2016 durch die Banff Working Group festgelegt: ein histopathologisches Schädigungsmuster, konsistent mit einer akuten antikörpervermittelten Abstoßung; ein positiver Nachweis von DSA im Patient*innenserum; diffuse mikrovaskuläre Ablagerungen von C4d und der Ausschluss anderer möglicher Schädigungen des Transplantates (42).

Die chronische Form der antikörpervermittelten Abstoßungsreaktion äußert sich durch einen langsamen Schädigungsprozess. Durch das subklinische Bild wird eine Diagnose oft spät im Verlauf gestellt. Erst zu einem fortgeschrittenen Zeitpunkt sind laborchemische Veränderungen, wie eine Transaminasenerhöhung, nachweisbar. In der Verlaufsbiopsie zeigen sich typischerweise inflammatorische und fibrotische Veränderungen des Parenchyms sowie posttransplantatorisch vorliegende DSA, meist der Klasse II (43).

Die Gewebeschädigung durch DSA ist multifaktoriell. Zu den direkten Wegen gehört die Aktivierung der Komplementkaskade. Eine Bindung von C1q an DSA kann den ersten Schritt der Kaskade auslösen, was zu einer Infiltration proinflammatorischer Zellen ins Gewebe mit der Folge einer Zellschädigung und -apoptose führt. Dieser Pathomechanismus bedingt eine mikrovaskuläre Ablagerung von C4d, welches als diagnostischer Marker erprobt und teilweise genutzt wird (44,45). Die IgG-Subgruppe, der durch B-Zellen exprimierten Antikörper spielt dabei eine Rolle. Unterschieden werden vier Subgruppen (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), deren Struktur unter anderem die Bindungsaffinität zu Immunzellen und Komplement reguliert. Der Switch bzw. Wechsel zwischen den Gruppen wird durch die Interaktion mit T-Zellen induziert und folgt einem festen Schema (IgG3→IgG1→IgG2→IgG4), welches durch das Interagieren von Zytokinen alternieren kann (46,47). Eine permanente Exposition mit Antigenen ist Auslöser für einen temporären Subgruppen-Switch. Einzelne Subgruppen (IgG1, IgG3) können effektiver Komplement C1q binden und die Komplementkaskade initiieren (48). Resultat dieser unterschiedlichen Bindungsqualitäten ist bei vermehrtem Vorliegen der IgG3-Subgruppe ein höheres Risiko für Transplantatversagen und Abstoßung nach LT, wie unter anderem Kaneku et al. (2012) feststellte (49,50).

O'Leary et al. (2015) wies bei lebertransplantierten Patient*innen eine Assoziation zwischen C4d-Ablagerungen und posttransplantatorisch nachweisbaren DSA sowie einer erhöhten Inflammation der Leber nach, konnte aber aufgrund inkonsistenter Präsentation keine allgemeingültige Empfehlung zur Verwendung als diagnostischen Marker für die antikörpervermittelte Transplantatabstoßung treffen (43).

O'Leary beschrieb vorab 2014 einen Zusammenhang zwischen einem frühen Organversagen und bei den Patient*innen nachgewiesenen DSA nach LT, den sie retrospektiv identifizierte, nachdem als idiopathisch bezeichnete Rejektionen erneut untersucht wurden. Sie beschrieb in diesem Kontext eine 10%ige Inzidenz der akuten durch Antikörper vermittelten Abstoßungsreaktion bei bereits vor Transplantation bestehenden DSA (51). Weitere Studien über den Einfluss von DSA auf einen frühzeitigen Verlust der Leber, im Hinblick auf de-novo als auch auf präformierte Antikörper, erhärteten die kritische Rolle der DSA und ihren negativen Einfluss nach LT (50,52).

Eine höhere Rate an chronischen Abstoßungen bei Vorliegen von DSA wurde in weiteren Studien nachgewiesen. Gegen eine eindeutige Kausalität spricht in diesem Zusammenhang die Tatsache, dass parallel dazu bei vielen eingeschlossenen

Patient*innen mit DSA eine chronische antikörpervermittelte Abstoßungsreaktion ausblieb, sodass eine definitive Beurteilung des Risikos nicht abschließend möglich war (43,49).

Neben der antikörpervermittelten Transplantatabstoßung wurden im Zusammenhang mit DSA nach LT höhere Raten an Transplantatfibrose detektiert, wie 2012 durch Miyagawa-Hayashino et al. in einem pädiatrischen Kollektiv gezeigt (53). Eine Bestätigung dieser Beobachtung wurde durch O’Leary et al. in einem Erwachsenenkollektiv durchgeführt, zusätzlich wurde eine erhöhte Inflammationstätigkeit im Lebertransplantat bei DSA-Positivität nachgewiesen (43). DSA sind auch als Risikofaktor für die Ausbildung biliärer Strikturen, z.B. im Rahmen der Ischemic Type Biliary Lesions (ITBL) im Langzeitverlauf nach LT beschrieben (54).

1.3 Follow-up nach Lebertransplantation

Routinemäßig durchgeführte Protokoll-Leberbiopsien sind kein universeller Standard in der Nachsorge nach LT. Trotz ihrer Invasivität ließen sich Vorteile für das Langzeitoutcome der Patient*innen, unter anderem durch Sebagh et al. (2003) nachweisen: Im Rahmen einer systematischen Durchführung und Auswertung von Leberbiopsien etwa 10 Jahre nach LT, zeigten sich bei etwa 80% der lebertransplantierten Patient*innen histologische Auffälligkeiten am Transplantat. Eine definitive Korrelation mit dem klinischen Bild oder laborchemischen Parametern der Patient*innen bestand nicht (55). Relevante histopathologische Merkmale, wie fibrotische bis zirrhatische Veränderungen, Inflammationstätigkeit, Steatose und Veränderungen an den Gallengängen bzw. Verlust dieser, können ohne invasive diagnostische Methoden erst spät auffällig werden und durch ihre lange klinische Inapparenz eine infauste Organschädigung, z.B. im Sinne einer chronischen Abstoßungsreaktion nach sich ziehen. Regelmäßige histologische Untersuchungen ermöglichen eine Beurteilung des Transplantats über Jahrzehnte der Nachsorge (55–57).

Eine nicht-invasive Beobachtungsmöglichkeit der Transplantatfunktion ist die laborchemische Untersuchung des Patient*innenblutes durch die Transaminasen Alanin-Aminotransferase (ALT) und die Aspartat-Aminotransferase (AST). Diese Enzyme werden bei Zellschädigung der Leber ins Blut ausgeschüttet (58). Mells et al. fand in einer retrospektiven Auswertung von Protokoll-Biopsien lebertransplantierte Patient*innen mit normwertigen Transaminasen, dass mehr als zwei Drittel der Kohorte eine auffällige

Histopathologie, entsprechend eines subklinischen Schädigungsmusters, aufwies (59). Die Sensitivität dieses Diagnostikums ist entsprechend herabgesetzt (56).

Indikation für eine Biopsie ist eine plötzliche Transaminasenerhöhung nach Ausschluss von viralen Hepatitiden und Noxen sowie Perfusionsauffälligkeiten (60). Ursächlich dafür, dass Protokoll-Biopsien nicht regelhaft bei asymptomatischen Patient*innen durchgeführt werden, sind unter anderem ein geringes Mortalitäts- und Morbiditätsrisiko, der Preisfaktor der Durchführung und die Annahme, dass weder nützliche Informationen noch ein klinischer Wert aus histopathologischen Auffälligkeiten folgen würde. Ernsthaftige Komplikationen sind dabei selten und werden mit 2% von den post-interventionellen Schmerzen angeführt, dabei besteht eine Letalität von etwa 0,01% (56,61,62). Ein Argument für die regelmäßige Durchführung der Protokoll-Biopsien ist die Möglichkeit zur Observation klinisch inapparenter Parenchymschädigungen nach LT und eine damit verbundene frühzeitige Therapieoption, z.B. durch Anpassung des Medikationsregimes. Eine Verbindung mit dem Nachweis von DSA könnte eine spezifische Kontrolle von Risikopatient*innen bieten und somit das Langzeitüberleben nach LT verbessern (63–65).

1.4 Fragestellung und Zielsetzung

Neuberger et al. formulierte 2017 Empfehlungen zum Umgang mit DSA im posttransplantatorischen Verlauf nach LT. Zur Routine-Bestimmung des DSA-Titers wurde jedoch keine Empfehlung ausgesprochen (65)

HLA-Inkompatibilitäten vor Nierentransplantation gelten als Kontraindikation, da sie z.B. für einen frühzeitigen Organverlust prädisponieren (66). Bezogen auf die Rolle präformierter DSA vor LT, besteht bis zum jetzigen Zeitpunkt keine Handlungsempfehlung, da unter anderem vorher zirkulierende DSA eine Tendenz zur Verringerung bzw. zum Verschwinden im Verlauf post-transplantationem haben (67). Bei simultaner Doppeltransplantation von Leber und Niere wurde früh eine Reduktion der zirkulierenden DSA beobachtet und ein protektiver Effekt durch die mittransplantierte Leber vermutet (68). Dar et al. wies 2011 eine Limitation des protektiven Effekts nach, spezifisch bei Zirkulation hoher Antikörper-Titer von Klasse II DSA und konsekutiv ein geringeres Graft-Überleben der Niere (69).

Nach LT persistierende oder de-novo auftretende DSA sind, wie von Muro 2021 beschrieben, assoziiert mit einer erhöhten Rejektionswahrscheinlichkeit, Progression einer Transplantatfibrose und -inflammation und resultierend einem schlechteren

Langzeitüberleben der Patient*innen (67). Demgegenüber stehen die Ergebnisse von O'Leary et al. aus 2011. Ein Zusammenhang zwischen dem Vorliegen von DSA und einer chronischen Abstoßung konnte im beobachteten Kollektiv nachgewiesen werden. Allerdings präsentierten sich parallel dazu 61% der Patient*innen im Vergleichskollektiv ohne eine Transplantatabstoßung trotzdem mit gleichzeitig vorliegenden DSA (70). Diese Erkenntnis führt zu Zweifeln an der Theorie der DSA als eindeutiger Prädiktor für ein schlechteres Langzeitüberleben nach LT (50).

Der Stellenwert der DSA-Bestimmung sowohl vor als auch nach LT ist aktuell nicht genau zu definieren. Die engmaschige Kontrolle von DSA sowie ein entsprechend des individuellen Risikos durchgeführtes Schema an Protokollbiopsien, kann die Möglichkeit bieten Risikokonstellationen auszumachen. Im Kontext der Forschung an einer maßgeschneiderten Immunsuppression wäre dieses Vorgehen ein Ansatz um die Medikation auf ein Minimum zu reduzieren und dabei trotzdem das Langzeitüberleben nach LT zu optimieren (65).

Insbesondere in Deutschland herrscht seit Jahren ein Organmangel (71). Das Ziel ist daher die Verbesserung des Langzeitüberlebens. Außerdem folgt auf eine geringere Rate an Re-LT eine Entlastung des Gesundheitssystems und eine höhere Chance auf ein Organ für Patient*innen mit infauster Prognose aufgrund einer sich im Endstadium befindlichen Lebererkrankung (65).

Die vorliegende Studie beschäftigt sich mit der Frage, ob das Vorhandensein von DSA im Blut der Empfänger*innen Auswirkungen auf die Transplantatfunktion nach LT hat. Unser Fokus liegt auf der Suche nach einer möglichen Relevanz der DSA für Pathologien bzw. Alterationen auf biochemischer, histologischer und klinischer Ebene, ausgewertet unter anderem auf Grundlage von Protokollbiopsien.

2. Material und Methoden

2.1 Patient*innen

Die Dissertation fokussiert sich auf eine retrospektive Analyse von Daten lebertransplantierter Patient*innen, die sich im Nachsorgeprogramm in der Lebertransplantationsambulanz der Chirurgischen Klinik am Campus Virchow Klinik der Charité – Universitätsmedizin Berlin befinden. Die Daten der Patient*innen wurden im Sinne einer Querschnittsstudie im Rahmen der regelmäßigen Routinenachsorge erhoben. Eine einmalige Erfassung von klinischen, laborchemischen und histologischen

Parametern von 291 Patient*innen wurde zwischen Januar 2017 und Juni 2018 durchgeführt und mit einer Bestimmung des HLA-Ak Wertes im Serum ergänzt.

Der Transplantationszeitraum der Kohorte liegt zwischen Dezember 1988 und Oktober 2017. Es wurden fünf extern transplantierte Patient*innen eingeschlossen, die in unserem Zentrum nachversorgt wurden. Die Analyse der Patient*innenkohorte fand nach drei Jahren im August 2020 statt.

Eingeschlossen wurden ausschließlich Patient*innen deren HLA-Ak Wert untersucht wurde (n=291). Eine Untersuchung der DSA, die sich gegen Spenderantigene richten, wurde bei 271 Patient*innen durchgeführt und mit speziellem Augenmerk betrachtet.

Histologische Untersuchungen lagen von 196 Empfänger*innen vor und wurden nach speziellen Kriterien (Steatose, Fibrose, Inflammation, Hämosiderose, Gallengangspathologien, Maschendrahtfibrose) untersucht.

Alle inkludierten Patient*innen hatten das 18. Lebensjahr vollendet, waren in der Lebertransplantationsambulanz zur Nachsorge angebunden und erschienen entsprechend regelmäßig zur Nachsorge. Der größere Anteil des Patient*innenkollektivs (n=240) wurde für die Nachsorge stationär aufgenommen, 51 Patient*innen waren ambulant vorstellig.

Die Datenakquise erfolgte zum Zeitpunkt der jeweiligen Nachsorgeuntersuchung, wobei vorherige oder spätere Befunde bewusst keine Berücksichtigung fanden. Dadurch hat sich ein stichprobenartiger Ausschnitt ergeben.

Eine Durchführung der Studie nach den Grundsätzen der guten wissenschaftlichen Praxis und der Deklaration von Helsinki wurde unter anderem durch eine anonymisierte und retrospektive Auswertung der Daten gewährleistet. Eine Genehmigung der Ethikkommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin liegt vor (EA1/255/20).

2.2 Datenerhebung

Die Datenerhebung erfolgte anhand der elektronischen Patient*innenakte der Charité – Universitätsmedizin Berlin (SAP). Ergänzt wurde der Datensatz durch spezifische HLA- und DSA-Daten aus dem Institut für Transfusionsmedizin, erhoben mittels des Softwareanalysesystems Fusion sowie histopathologische Daten, die durch das Institut für Pathologie gesammelt wurden. Die Nachsorge in der Lebertransplantationsambulanz erfolgte in einem festen Rhythmus: 6 Monate sowie 1, 3, 5, 7, 10, 13, 15, 17, 20 usw. Jahre nach Lebertransplantation.

Die Nachsorge beinhaltete eine aktuelle Anamnese, körperliche Untersuchung, laborchemische Kontrollen des Blutbilds, der Entzündungsparameter, Nieren- und Leberwerte, der Gerinnung sowie der Talspiegel von Tac, Ciclosporin A (CyA), Everolimus (EVR) und MMF. Außerdem eine Sonographie des Abdomens inklusive Flussmessung in der Leber sowie Beurteilung des Parenchyms auf Verfettung, Fibrose und auffällige Läsionen, eine Knochendichtemessung und ein Röntgen Thorax. Weiterhin wurde der Wert des Alpha-1-Fetoprotein (AFP), bei HCC als LT-Indikation, bestimmt.

Der Talspiegel ist der Serumspiegel eines Wirkstoffs unmittelbar vor einer anstehenden Dosisgabe. Die Bestimmung dieses Werts dient zur Steuerung der Medikamentenwirkung (72).

Durch uns laborchemisch kontrolliert wurden die Transaminasen der Patient*innen, die ALT und AST in der Einheit Unit/Liter (U/l) - Enzyme, die als Parameter zur Detektion der Leberzellschädigung gemessen werden. Weiterhin bestimmten wir die Cholestaseparameter Gamma-Glutamyltransferase (GGT) in U/l, die Alkalische Phosphatase (AP) in U/l und das Gesamt-Bilirubin in mg/dl. Die Werte des Kreatinins in mg/dl zur Darstellung der Nierenfunktion und der International Normalized Ratio (INR) als Parameter für die Syntheseleistung der Leber wurden ebenso evaluiert.

Spezieller Fokus lag auf dem Vorkommen der HLA-Ak und der DSA. Bei 20 Patient*innen konnte kein DSA-Status ermittelt werden. Gründe waren hier Notfall-Transplantationen bei besonders akuten Indikationen und entsprechend keine prä-transplantatorisch durchgeführte Typisierung.

Eine Biopsie der Leber wurde bei 196 der eingeschlossenen Patient*innen durchgeführt. Diese erfolgte im Rahmen eines stationären Aufenthaltes, zur anschließenden Gewährleistung einer 24-stündigen Supervision. Kontraindikationen für eine Biopsie waren das Vorliegen von Gerinnungsstörungen und die Einnahme von Antikoagulantien, Ablehnung durch den*die Patient*in und eine kürzlich durchgeführte Leberbiopsie, z.B. aufgrund einer dringlichen Indikation.

Eine Analyse der Leberbiopsien wurde durch sehr erfahrene Patholog*innen im Bereich der Transplantation durchgeführt. Nach der Fixierung durch einen Paraffinschnitt wurden die Präparate standardmäßig zur Übersicht mit Hämatoxylin-Eosin eingefärbt. Daraufhin wurden Spezialfärbungen durchgeführt. Darunter mit Goldner, Berliner Blau und der Periodsäure-Schiff-Reaktion (PAS). Die histopathologischen Befunde wurden anhand ihrer Auffälligkeiten sowie unter Nutzung einer standardisierten Einteilung ausgearbeitet und durch die Konsensuskonferenz der Deutschen Gesellschaft für Pathologie, der

Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten und des Kompetenznetzes Hepatitis, klassifiziert (73).

Zusätzlich zu einer Untersuchung auf Zeichen einer akuten Rejektion erfolgte die Klassifizierung anhand folgender Aspekte: Maschendrahtfibrose, Fibrorestadium, Inflammationsgrad, Verfettungsgrad, Hämosiderosegrad und Gallengangspathologien. Neben der Einteilung der Maschendrahtfibrose und der Gallengangspathologien in Vorkommen und Nicht-Vorkommen wurden die Fibrorestadien nach Desmet et al. und die Inflammationsgrade nach Desmet und Scheuer kodiert (Tabelle 1) (74). Im Nachgang wurden die Kriterien in zwei Übergruppen eingeteilt, um zu kleine Subpopulationen zu vermeiden und eine bessere statistische Vergleichbarkeit zu gewährleisten (Tabelle 2).

Tabelle 1: Kodierung der histopathologischen Daten

Fibrose*	0 keine Fibrose 1 milde/geringgradige; portale Faservermehrung, keine Septen 2 mäßige/mittelgradige; Ausbildung portoportal Septen 3 schwere/hochgradige; Septen mit Destruktion der Leberarchitektur 4 Zirrhose
Inflammation*	0 keine Inflammation 1 minimal 2 mild/leichtgradig 3 mäßige/mittelgradige 4 schwere/hochgradige
Verfettung	0 keine Verfettung 1 leichtgradige (<1/3 der Zellen) 2 mittelgradige (>1/3 der Zellen) 3 hochgradig (>2/3 der Zellen)
Hämosiderose	0 keine Hämosiderose 1 leichte 2 mittelgradige 3 schwere/hochgradige

*Klassifikation der Fibrorestadien nach Desmet und Inflammationsgrade nach Desmet&Scheuer (74)

Tabelle 2: Einteilung der histopathologischen Kriterien

Fibrose	Gruppe 1: keine bis milde (0-1)* Gruppe 2: mittelgradige bis Zirrhose (2-4)*
Inflammation	Gruppe 1: keine bis minimal (0-1)* Gruppe 2: milde bis schwere (2-4)*
Steatose	Gruppe 1: keine bis unter 1/3 der Zellen (0-1)** Gruppe 2: mittel- bis hochgradig (2-3)**
Hämosiderose	Gruppe 1: keine bis leichtgradig (0-1)** Gruppe 2: mittel- bis hochgradig (2-3)**

* Fibrorestadien nach Desmet und Inflammationsgrade in Klammern in Anlehnung an Desmet&Scheuer (74)

** histopathologische Grade in Klammern, siehe Tabelle 1

Wir untersuchten eine Assoziation der detektierten HLA-Ak und DSA aus den Patient*innenserum mit histologischen Daten auf Grundlage einer Stichprobe.

Relevante Empfänger*innencharakteristika (Grunderkrankung, Alter, Geschlecht, Größe und Gewicht) zum Zeitpunkt der Nachsorgeuntersuchung wurden erfasst. Neben der zugrundeliegenden Ätiologie wurde eine Subgruppen-Analyse der HCC-Patient*innen durchgeführt. Es wurde der Einfluss der Antikörper auf Veränderungen und Komplikationen der Gallenwege, wie beispielsweise nicht-anastomotische biliäre Strikturen betrachtet.

Anhand der Größe und des Gewichts wurde der Body-Mass-Index (BMI) ermittelt und nach klinischer Aussage über den Ernährungszustand in vier Gruppen unterteilt: Untergewicht (BMI < 18 kg/m²), Normalgewicht (BMI 18-25 kg/m²), Übergewicht (BMI 26-29 kg/m²), Adipositas (BMI >29 kg/m²).

Die Immunsuppressionstherapie wurde in mono- bzw. duale Medikation und Dosierung eingeteilt. Basierend primär auf Calcineurininhibitoren (CNI), wie Tac und CyA. Durch Kombination mit dem Antimetaboliten MMF, z.B. im Rahmen von Einschränkungen der Nierenfunktion, wurde die Medikation individuell angepasst. Patient*innen mit einer malignen Lebererkrankung in der Anamnese bzw. eingeschränkter Nierenfunktion wurden ebenso mit mammalian target of Rapamycin-Inhibitoren (mTORi), wie Sirolimus und EVR, medikamentös eingestellt.

Standardgemäß wurde anfangs eine Zusatztherapie mit Cortison durchgeführt. Dieses wurde im Verlauf ausgeschlichen und nur im Rahmen der AIH mit einer Erhaltungsdosis von 5 mg langfristig weitergeführt.

Quantifiziert wurde die Wirkung der Immunsuppression zum Teil mit Talspiegelbestimmungen im Patient*innenserum bzw. durchschnittlich eingenommenen Dosen (Tabelle 3).

Die Charakteristika der jeweiligen Organspender*innen (Alter, Geschlecht, BMI, Intensivstation (ITS)-Zeit) wurden erfasst. Bei 287 der Patient*innen lagen Daten der jeweiligen Spender*innen vor, wobei vier Spender*innen aufgrund der extern durchgeführten Transplantation bzw. der teilweise nicht übermittelten Daten, einer Nachsorge nicht zugänglich (lost to Follow-up) waren.

Zur Betrachtung möglicher Einflüsse dieser Faktoren, sowohl auf das Vorkommen der Antikörper als auch auf den Zustand des Transplantats, erfolgte die Auswertung möglicher Assoziationen zwischen den Parametern.

Tabelle 3: Gruppierung der Dosierungen bzw. Talspiegel der immunsuppressiven Medikation

Gruppe	Niedrigdosis	Standarddosis	Hochdosis
Tac*	< 3	3 - 5	> 5
CyA*	< 50	50 - 100	> 100
EVR*	< 3	3 - 5	> 5
MMF**	≤ 1	> 1	> 1

*Talspiegel in ng/ml

**Dosis in g

2.3 Transplantationsimmunologische Labormethoden

Zur Detektion und Spezifizierung von HLA-Ak im Serum der Patient*innen wurden kommerzielle Luminex®-basierte Testmethoden angewendet. Diese zählen zu den Festphasen-Immunoassays, bei denen die HLA-Moleküle an eine feste Matrix gebunden vorliegen (25).

Hierbei werden, im Gegensatz zur weniger sensitiven enzymvermittelten ELISA-Technik (75), fluoreszenzimpregn timer Latexbeads verwendet. Diese Beads sind mit einer Mischung aus zwei Fluoreszenzfarbstoffen mit einem Adsorptionsmaximum bei 635 nm und Emissionsmaxima von 580 bzw. 660 nm graduiert imprägniert, so dass diese mithilfe eines designierten Durchflusszytometers (Luminex® 100/200 bzw. LABScan3D) einzeln voneinander differenziert werden können (76).

Jeder dieser bis zu 100 Beads trägt verschiedene HLA-Moleküle, gegen die Antikörper nachweisbar sein können. Dazu werden 5µl Beads mit 20µl Patient*innenserum für 30 Minuten bei Raumtemperatur (20-25°C) und unter sanftem Schütteln inkubiert, anschließend 3-mal mit 150-200µl Waschpuffer und Zentrifugation bei 1300g für 5 Minuten gewaschen. Antikörper können korrespondierende HLA-Moleküle auf den Beads binden und werden durch Zugabe von 100µl eines mit R-Phycoerythrin (PE) gekoppelten Detektionsantikörpers (Ziege anti-human IgG) nach weiteren 30 Minuten lichtgeschützter Inkubation bei Raumtemperatur und anschließenden 2 Waschschr itten (wie oben beschrieben) sowie der Messung im Luminex® 100/200 bzw. LABScan3D detektiert. Das qualitative Screening auf HLA-Ak wurde mittels LABScreen® Mixed Beads (One Lambda, West Hills, CA, USA) durchgeführt, welche Antigenpools von 3 bis 5 verschiedenen Individuen, getrennt nach HLA Klasse I und II, tragen. Die Spezifizierung erfolgte

nachgeschaltet im Rahmen einer Stufendiagnostik mittels LABScreen® Single Antigen Beads (One Lambda), die jeweils lediglich ein einziges HLA-Molekül tragen (76).

Die Menge an PE-gekoppelten Detektionsantikörpern ist dabei direkt proportional der Intensität des emittierten Fluoreszenzsignals bei 578 nm, die als mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) angegeben wird. Aufgrund sterischer Hinderungen korreliert jedoch das MFI-Signal nicht direkt mit der Menge an gebundenen HLA-Ak. Dennoch ist dieser der einzige Marker, der zumindest indirekt Rückschlüsse auf die Menge an HLA-Ak mittels Luminex®-Technologie ermöglicht. HLA-Ak mit einem $MFI > 1000$ wurden als positiv gewertet.

HLA-Ak, die gegen HLA-Mismatches zwischen Spender*in und Empfänger*in nachweisbar waren, wurden als sogenannte DSA deklariert (25,76).

2.4 Statistische Auswertung

Zu Beginn der statistischen Auswertung der vorliegenden Stichprobe wurden die Null- (H_0) und Alternativhypothese (H_1) festgelegt. Die Nullhypothese wurde definiert als der fehlende Einfluss der DSA auf den Zustand des Transplantats. Die Alternativhypothese wurde definiert als das Vorhandensein eines Zusammenhangs der DSA im Patient*innenserum mit einem schlechteren Outcome in der Leberbiopsie, verifiziert mit Hilfe von vorab definierten histopathologischen Parametern. Das explorative Signifikanzniveau wurde vorher, wie allgemein üblich, auf ein $\alpha = 0,05$ festgelegt. Die Nullhypothese muss zu Gunsten der Alternativhypothese abgelehnt werden sobald der p-Wert das festgelegte α unterschreitet. Ein p-Wert unter 0,05 zeigt entsprechend ein signifikantes Ergebnis an (77).

Wir setzten das Vorkommen sowohl der HLA-Ak als auch im Besonderen der DSA mit den histologischen Parametern, Patient*innencharakteristika (Alter, BMI, Geschlecht, Immunsuppression etc.) sowie Spender*innencharakteristika ins Verhältnis (Tabelle 8-11).

Den p-Werten kommt in dieser Arbeit eine deskriptive bzw. explorative Funktion zu. Daher wurden diese nicht für Multiplizität adjustiert.

Eine umfassende deskriptive Analyse der Patient*innenparameter dieser Kohorte wurde durchgeführt. Die metrischen bzw. quantitativen Parameter waren bspw. das Patient*innenalter, das Spender*innenalter ebenso Laborwerte der Patient*innen zum Zeitpunkt der Nachsorge. Diese wurden mit Mittelwert, Standardabweichung (SD), Median, Minimum (min) und Maximum (max) beschrieben. Zur visuellen Darstellung der

Laborwerte nutzten wir Boxplots. Diese bieten die Möglichkeit der Veranschaulichung der Verteilung metrischer Variablen und deren Mediane (78).

Kategoriale Variablen, respektive qualitative Daten waren bspw. Angaben wie das Geschlecht, der kategorisierte BMI, das Vorkommen von DSA und HLA-Ak, die histopathologischen Parameter ebenso die Medikation.

Unter Verwendung des Chi-Quadrat-Tests und Kreuztabellen untersuchten wir unser Patient*innenkollektiv auf eine Abhängigkeit zwischen dem Vorkommen von bestimmten Antikörpern (HLA- und DSA-) im Serum der Empfänger*innen und den beschriebenen Parametern. Die H_0 postulierte keinen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Antikörpern im Blut und einem schlechteren Outcome der Patient*innen, gemessen mit Hilfe einer Leberbiopsie. Zur Analyse wurde der Chi-Quadrat-Unabhängigkeitstest genutzt. Dieser bietet die Möglichkeit, zwei kategoriale Variablen gegeneinander überzustellen, indem er die erwartete mit der beobachteten Häufigkeit vergleicht. Da eine Voraussetzung für die Sinnhaftigkeit des Testes ist, dass die erwartete Fallzahl der jeweiligen Untergruppe mindestens $n=5$ ist, wurden die p-Werte bei Fallzahlen unter $n=3$ kritisch betrachtet.

Zur Auswertung der Laborwerte (Transaminasen, Cholestaseparameter, INR, Kreatinin) nach dem unabhängigen Merkmal der Antikörperbefunde (HLA-Ak, DSA), nutzten wir den Mann-Whitney-U (MWU) Test. Dieser nicht-parametrische Test vergleicht die zentralen Tendenzen zweier unabhängiger Stichproben durch die Bildung von Rängen für die Messwerte, die aufsteigend sortiert werden. Nach Berechnung der Rangsummen können dann zwei Stichproben verglichen werden. Die Daten müssen für diesen statistischen Test mindestens ordinalskaliert sein (79).

Zum Zwecke der Confounder-Adjustierung führten wir eine logistische Regressionsanalyse durch. Als abhängige Variable definierten wir die histopathologischen Parameter Fibrose, Steatose, Maschendrahtfibrose und Inflammation. Hierfür wurden die Empfänger*innen eingeteilt in die Gruppen „kein HLA & kein DSA“, „nur HLA“ und „HLA und DSA“. Als Kovariaten wurden neben dem Antikörperstatus das Vorliegen eines HCC und einer viralen Krankheitsursache sowie das Geschlecht der Empfänger*innen im Modell untersucht. Weitere Kovariaten, deren Auswertung in Betracht gezogen wurde, waren bspw. das Spender*innenalter, die Dosis an Tac oder der Alkoholstatus. Diese wurden bei zu geringen Subpopulationen ausgeschlossen.

Alle Daten wurden mit Hilfe der statistischen Software „IBM SPSS Statistics Version 26“ sowie R ausgewertet (R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Wien, Österreich. <http://www.R-project.org/>), die Diagramme mit Hilfe von SPSS erstellt.

Tabelle 4: Empfänger*innencharakteristika

Patient*innencharakteristika (n=291)	Werte n (%) / Median (min; max)
Geschlecht	
männlich	169 (58,1)
weiblich	122 (41,9)
Alter zum Untersuchungszeitpunkt (in Jahren)	
< 50	55 (18,9)
>= 50	236 (81,1)
Ätiologie	
Kryptogene Zirrhose	14 (4,8)
Alkoholische Zirrhose	83 (28,5)
Viral	73 (25,1)
- HCV	46 (63,0)
Autoimmune Schädigung (PBC, PSC, AIH)	53 (18,2)
Metabolische Erkrankungen	16 (5,5)
Kongenitale Erkrankungen	15 (5,2)
Akute Schädigung	19 (6,5)
Sonstiges	18 (6,2)
Ausmaß	
Zirrhose	257 (88,3)
- Mit HCC	56 (21,8)
- Ohne HCC	201 (78,2)
BMI (in kg/m²)	
Untergewicht (BMI < 18)	7 (2,4)
Normalgewicht (BMI 18-25)	141 (49,0)
Übergewicht (BMI 26-29)	72 (25,0)
Adipositas (BMI > 29)	68 (23,6)
Zeit zwischen LT und Nachsorge (Jahre)	8 (0; 28)
Zahl der Re-LT	23 (7,9)
Zeit zwischen Re-LT und Nachsorge (Jahre)	4 (0; 22)
Anzahl der Verstorbenen	26 (8,9)
HLA-Ak Status	
HLA-Ak positiv	
- HLA Klasse I	42 (28,6)
- HLA Klasse II	64 (43,5)
- Klasse I+II	41 (27,9)
DSA Status	
- positiv	80 (29,5)
Akute Abstoßungen	
- eine	89 (63,1)
- > 1	39 (27,7)
- > 3	13 (9,2)
Biliäre Komplikationen	
- ITBL	16 (18,6)

(80)

3. Ergebnisse

3.1 Beschreibung des Patient*innenkollektivs

3.1.1 Krankheitsgenese und Transplantationsindikation

Die eingeschlossene Kohorte umfasste 291 Patient*innen (w: 122 (41,9%) vs. m: 169 (58,1%)). Der mediane Zeitraum von Erst-LT bis zum Erhebungszeitraum betrug 8 Jahre (0-28; min-max). Davon schlossen wir 23 Patient*innen (7,9%) nach Re-LT, mit einem medianen Zeitraum von Re-LT bis zum Zeitpunkt der Datenerhebung von 4 Jahren (0-22; min-max) ein.

Zum Zeitpunkt des Follow-ups waren 26 Patient*innen verstorben (8,9%). Häufigste Transplantationsindikation (83 (28,5%)) war die alkoholisch und nutritiv-toxisch induzierte Lebererkrankung im Endstadium, darunter die nicht-alkoholische Steatohepatitis (NASH). Danach folgte die infektiös bzw. viral bedingte Parenchymschädigung (73 (25,1%)), z.B. durch eine chronifizierte Infektion mit dem Hepatitis B Virus (HBV), mit oder ohne Kombination mit dem Hepatitis D Virus (HDV), oder eine Infektion mit HCV (46 (63%)), unter anderem mit simultaner Schädigung durch Alkoholabusus. Es wurden 257 Patient*innen (88,3%) unserer Kohorte auf Grundlage einer Zirrhose transplantiert (mit HCC: 56 (21,8%) vs. ohne HCC: 201 (78,2%)). Weiterhin eingeschlossen wurden autoimmunbedingte Pathologien als LT-Indikation (53 (18,2%)), wie PBC, PSC und AIH sowie metabolische Grunderkrankungen (16 (5,5%)), wie Morbus Wilson, Hämochromatose, Alpha-1-Antitrypsinmangel. Kongenitale Pathologien (Alagille-Syndrom, M. Osler, kongenitale Leberfibrose, polyzystische Leber- und Nierenerkrankung) lagen seltener vor (15 (5,2%)) ähnlich den akuten Schädigungsmustern (Akutes und toxisches Leberversagen: 19 (6,5%)). Weitere Indikationen (18 (6,2%)) waren seltenere Erkrankungen sowie Pathologien des Ersttransplantates, wie eine vorbestehende ITBL, ein HCC, ein intrahepatisches Cholangiokarzinom (ICC), Lebermetastasen, eine sekundäre biliäre Zirrhose, eine sekundäre sklerosierende Zirrhose, das Budd-Chiari Syndrom, Traumata der Leber, maligne Hämangiome oder Leberadenomatose.

Abstoßungsreaktionen traten bei 141 (48,5%) der Patient*innen in der Zeit nach LT auf (eine: 89 (63,1%) vs. >1: 39 (27,7%) vs. >3: 13 (9,2%)).

Zum Follow-up Zeitpunkt vorbeschriebene Gallengangspathologien lagen zusätzlich bei 86 Patient*innen (29,6%) vor, davon bei 16 Patient*innen (18,6%) eine ITBL (Tabelle 4).

3.1.2 Alter und BMI zum Zeitpunkt der Nachsorge

Das mediane Alter der Kohorte zum Zeitpunkt der Datenakquise lag bei 61 Jahren (21-83; min-max) mit einem Mittelwert von 58,8. Das Alter wurde in zwei Gruppen eingeteilt: unter 50 Jahren (55 (18,9%)) und über sowie einschließlich 50 Jahre (236 (81,1%)). Der BMI konnte bei 288 Patient*innen ermittelt werden. Im Median lag er bei 25,3 kg/m² (16-46; min-max). Untergewichtige Patient*innen (7 (2,4%)) entsprachen mit einem BMI unter 18 kg/m² dem kleinsten Anteil, normalgewichtig (141 (49%)) war der größere Teil der Kohorte mit einem BMI zwischen 18 kg/m² und 25 kg/m². Mit einem BMI zwischen 26 und 29 kg/m² waren 72 Patient*innen (25%) übergewichtig und mit einem BMI von über 29 kg/m² litten 68 Patient*innen (23,6%) an einer Adipositas. Das entspricht somit einem Anteil von 48,6% des Kollektivs (Tabelle 4).

3.1.3 Status der Antikörper im Patient*innenserum

Der Fokus unserer Arbeitsgruppe lag auf einer Ermittlung der Rolle der Antikörper, respektive einer Bestimmung der HLA-Ak und DSA. Es wurden nur Patient*innen eingeschlossen, die auf HLA-Ak untersucht wurden (n=291; mit HLA: 147 (50,5%) vs. ohne HLA: 144 (49,5%)). Das Vorliegen der HLA-Ak wurde weiterhin in Klasse I (42 (28,6%)), Klasse II (64 (43,5%)) und Klasse I und II (41 (27,9%)) spezifiziert. Die HLA-Ak wurden bei 271 (93,1%) der Patient*innen in DSA (80 (29,5%)) und nicht-DSA (191 (70,5%)) differenziert. Bei 20 (6,9%) der Patient*innen lag kein DSA-Status vor (Tabelle 4).

3.1.4 Immunsuppression – Präparate, Dosierungen, Spiegel

Im Folgenden wird auf die Medikation der Patient*innen zum Zeitpunkt der Nachsorgeuntersuchung eingegangen.

Von 291 Patient*innen nahmen 289 (99,3%) ihre immunsuppressive Medikation ein. Zum Zeitpunkt der Datenerhebung wurden 2 (0,7%) Patient*innen ohne Immunsuppression geführt. Die Basismedikation für den Großteil waren CNI (272 (93,5%)). Eine Unterscheidung zwischen den Wirkstoffen Tac (243 (89,3%)) und CyA (29 (10,7%)) ergab eine Verteilung zu Gunsten von Tac. Davon nahmen 104 (35,7%) Patient*innen Tac in Monotherapie ein (Tabelle 5).

Eine Aufteilung in Niedrig-, Standard- und Hochdosis fand bei Tac, CyA und EVR anhand des Talspiegels und bei MMF anhand der eingenommenen Dosis statt (Tabelle 3). Die

Bestimmung des Talspiegels erfolgte bei 265 (97,4%) der Patient*innen mit CNI in der Medikamentenliste, gemessen aus dem Blutserum in ng/ml. Niedrigdosierte CNI-Talspiegel (58 (21,9%)) lagen bei einem Tac-Spiegel von unter 3 ng/ml und einem CyA-Spiegel von unter 50 ng/ml vor. Standarddosierte CNI (113 (42,6%)) wurden zwischen 3 und 5 ng/ml bei Tac und 50 bis 100 ng/ml bei CyA eingeordnet. Eine Hochdosis-CNI Einnahme (94 (35,5%)) lag ab einem Serumwert von über 5 ng/ml bei Tac und über 100 ng/ml bei CyA vor.

MMF nahmen 154 (52,9%; Monotherapie: 13 (8,4%)) der Patient*innen ein. Davon bekam der Hauptanteil eine Kombinationstherapie mit Tac (116 (75,3%)), gefolgt von der Kombination mit CyA (23 (14,9%)) und mit mTORi (2 (1,4%)) (Tabelle 5).

Quantifiziert wurde MMF anhand der kumulativen Dosis pro Tag (Tabelle 3). Eine geringe Dosierung entsprach einer Gabe von maximal 1g MMF pro Tag (101 (66,0%)). Eine Standard- bzw. Hochdosistherapie entsprach einer Dosierung ab über 1g pro Tag (52 (34,0%)). Bei einer Person konnte retrospektiv keine Aussage mehr über die Dosierung des MMF getroffen werden.

Eine Therapie mit mTORi wurde bei 33 (11,3%; Monotherapie: 2 (6,1%)) der Patient*innen eingesetzt. Eine duale Therapie wurde zusammen mit MMF (2 (6,1%)) und Tac (29 (87,8%)) durchgeführt (Tabelle 5). Einteilung des EVR-Spiegels in Niedrig- (< 3 ng/ml: 5 (17,2%)), Standard- (3-5 ng/ml: 7 (24,1%)) und Hochdosisgruppe (> 5 ng/ml: 17 (58,6%)) erfolgte wie bei den CNI anhand des Talspiegels in ng/ml.

Die Ermittlung der Talspiegel und Einteilung in Dosisgruppierungen innerhalb der Kohorte hatte rein explorativen Charakter aufgrund der Tatsache, dass sich alle Patient*innen an unterschiedlichen Zeitpunkten nach Transplantation befanden und entsprechend therapeutisch unterschiedlich hohe Zielspiegel i.R. der individuellen Immunsuppression angestrebt wurden.

3.1.5 Zustand nach HCC

Es wurden 56 (19,2%) Patient*innen der Gesamtkohorte aufgrund einer Zirrhose mit HCC transplantiert. Innerhalb dieser Gruppe wurde eine Subanalyse der verwendeten immunsuppressiven Medikation durchgeführt.

Der größte Teil der Patient*innen mit HCC (54 (96,4%)) nahm CNI als Basismedikation ein. Davon nahmen 16 (29,6%) der Patient*innen diese in Monotherapie. Der Einsatz von Tac (50 (92,6%)) überwog gegenüber dem Einsatz von CyA (4 (7,4%)). Dual therapiert (38 (70,4%)) wurde in Kombination mit MMF (26 (68,4%)) und mTORi (12 (31,6%)).

Sowohl MMF als auch mTORi wurden bei jeweils einem*r Patient*in mit Zustand nach HCC in Monotherapie eingesetzt (Tabelle 5).

Die meisten Patient*innen (25 (44,6%)) entwickelten das HCC auf Grundlage einer infektiös bedingten Hepatitis (HCV, HBV +/-HDV). Bei dem kleineren Teil der Kohorte (21 (37,5%)) entstand das HCC als Folge einer alkoholisch und nutritiv-toxisch bedingten Zirrhose.

Tabelle 5: Immunsuppression der Empfänger*innen

Immunsuppression (n=291)	Werte n (%) / Median (min; max)
Calcineurininhibitoren	272 (93,5)
- CyA	29 (10,7)
- Tac	243 (89,3)
- Monotherapie	104 (35,7)
MMF	154 (52,9)
- Monotherapie	13 (8,4)
- Dualtherapie: CyA	23 (14,9)
- Dualtherapie: Tac	116 (75,3)
- Dualtherapie: mTORi	2 (1,4)
mTORi	33 (11,3)
- Monotherapie	2 (6,1)
- Dualtherapie: MMF	2 (6,1)
- Dualtherapie: Tac	29 (87,8)
<hr/>	
Patient*innen mit HCC (n=56)	
mTORi	13 (23,2)
- Monotherapie	1 (7,7)
CNI	54 (96,4)
- CyA	4 (7,4)
- Tac	50 (92,6)
- Monotherapie	16 (29,6)
- Dualtherapie	38 (70,4)
- Dualtherapie: mTORi	12 (31,6)
- Dualtherapie: MMF	26 (68,4)
MMF	27 (48,2)
- Monotherapie	1 (3,7)

(80)

3.1.6 Auswertung der Biopsien

Zur Nachsorge wurden 196 (67,4%) Patient*innen der Kohorte leberpunktiert. Eine Untersuchung auf klassische histologische Parameter der Leberschädigung wurde durch erfahrene Patholog*innen durchgeführt, dokumentiert und durch unsere Arbeitsgruppe

ausgewertet (Tabelle 1, 2). Es wurde auf das Merkmal Maschendrahtfibrose untersucht und anhand des Vorkommens eingeteilt. Bei den meisten Patient*innen war diese unauffällig (keine: 137 (69,9%) vs. vorliegend: 59 (30,1%)).

Weiterhin erfolgte eine Untersuchung auf das Merkmal Fibrose, welches wie in Tabelle 1 und 2 beschrieben anhand Desmet et al. in vier Stadien unterteilt und daraufhin durch unsere Arbeitsgruppe in zwei Subgruppen differenziert wurde (74). Zur Ermöglichung einer besseren Vergleichbarkeit, fassten wir die Patient*innen ohne Fibroseanzeichen bis zur Entwicklung einer portalen Faservermehrung ohne Septenbildung in einer Gruppe zusammen (117 (59,7%)). Dagegen wurden Patient*innen mit dem histopathologischen Befund der Ausbildung von portoportal Septen im Leberparenchym bis hin zum Nachweis einer voll ausgeprägten Zirrhose in einer zweiten Gruppe zusammengefasst (79 (40,3%)), entsprechend den Stadien II bis IV.

Die Inflammation wurde mit Hilfe der Einteilung durch Desmet & Scheuer beschrieben und kategorisiert (Tabelle 1, 2), wobei der Großteil der Patient*innen weniger gravierende Auffälligkeiten aufwies. Deshalb wurde die Gruppeneinteilung wie folgt vorgenommen: keine Ausbildung bis zu einer minimal ausgebildeten Inflammation (166 (84,7%)) gegen eine milde bis schwere Form der Inflammation (30 (15,3%)) (74).

Das Merkmal der Steatose der Leber wurde durch den Anteil der auffälligen Zellen des Punktats beschrieben. Der überwiegende Anteil an Patient*innen wies eine Verfettung in weniger als 1/3 des histologischen Präparats auf (keine bis < 1/3: 172 (87,8%) vs. > 1/3: 24 (12,2%)).

Die Hämosiderose des Organs bzw. die Eisenablagerungen waren innerhalb der Kohorte nur gering ausgeprägt (keine bis leicht: 183 (93,4%) vs. mäßig bis schwer: 13 (6,6%)).

Die Gallengangspathologien (anastomotische Stenosen, ITBL, Rezidive einer PSC) wurden entsprechend des Vorkommens eingeteilt und waren zum Großteil unauffällig (keine: 171 (87,2%) vs. auffällig: 25 (12,8%)) (Tabelle 6).

Tabelle 6: Histologische Parameter der Leberbiopsien

Histologische Parameter (n=196)	Werte n (%) / Median (min; max)
Leberbiopsien	196 (67,4)
Maschendrahtfibrose	196 (100)
- keine	137 (69,9)
- vorliegend	59 (30,1)
Fibrose	196 (100)
- keine bis geringgradig (0-I)*	117 (59,7)
- mäßig bis Zirrhose (II-IV)*	79 (40,3)
Inflammation	196 (100)
- keine bis minimal (0-I)*	166 (84,7)
- mild bis schwer (II-IV)*	30 (15,3)
Steatose	196 (100)
- keine bis unter 1/3 des Biopstats (0-I)**	172 (87,8)
- > 1/3 des Biopstats (II-III)**	24 (12,2)
Hämosiderose	196 (100)
- keine bis leicht (0-I)**	183 (93,4)
- mäßig bis schwer (II-III)***	13 (6,6)
Gallengangspathologien	196 (100)
- keine	171 (87,2)
- auffällig	25 (12,8)

* Fibrosestadien und Inflammationsgrade nach Desmet & Scheuer, siehe Tabelle 1 (74)

** siehe Tabelle 1

(80)

3.2 Beschreibung des Spender*innenkollektivs

Die Daten von 287 (98,6%) der Organspender*innen waren verfügbar. Von der Gesamtkohorte waren 4 (1,4%) der Spender*innendaten einer Erhebung nicht zugänglich (lost to Follow-up). Von 285 der 287 Spender*innen war das Geschlecht dokumentiert (m: 157 (55,1%) vs. w: 128 (44,9%)) sowie das Alter zum Zeitpunkt des Todes. Dieses lag im Median bei 51 Jahren (10-89; min-max). Es wurde in eine Gruppe unter 50 Jahren und eine Gruppe über und einschließlich 50 Jahren eingeteilt (<50: 132 (46,3%) vs. >=50: 153 (53,7%)).

Der BMI von 274 (94,2%) der Spender*innen war zu ermitteln und lag im Median bei 24,7 kg/m² (15-46; min-max) und wurde konsistent zu den Empfänger*innencharakteristika in Untergewicht (1 (0,4%)), Normalgewicht (161 (58,8%)), Übergewicht (82 (29,9%)) und Adipositas (30 (10,9%)) eingeteilt.

Bei 287 der Personen in der Spender*innenkohorte konnte eine mediane ITS-Zeit von 3 Tagen ermittelt werden (0-49; min-max).

Tabelle 7: Spender*innencharakteristika

Patient*innencharakteristika (n=291)	Werte n (%) / Median (min; max)
Geschlecht	285* (97,9)
männlich	157 (55,1)
weiblich	128 (44,9)
Alter zum Zeitpunkt des Todes (in Jahren)	285* (97,9) / 51 (10; 89)
< 50	132 (46,3)
>= 50	153 (53,7)
BMI (in kg/m²)	274** (94,2) / 24,69 (15; 46)
Untergewicht (BMI < 18)	1 (0,4)
Normalgewicht (BMI 18-25)	161 (58,8)
Übergewicht (BMI 26-29)	82 (29,9)
Adipositas (BMI > 29)	30 (10,9)
ITS-Zeit	287*** (98,6) / 3 (0; 49)

* verfügbare Daten von 291 Patient*innen, 6 Patient*innen lost to Follow-up

** verfügbare Daten von 291 Patient*innen, 17 Patient*innen lost to Follow-up

*** verfügbare Daten von 291 Patient*innen, 4 Patient*innen lost to Follow-up

3.3 Auswertung der Patient*innencharakteristika

3.3.1 Assoziation mit HLA-Antikörpern

Aufgenommene Patient*innencharakteristika wurden in unserer Arbeit erhoben und unter dem Gesichtspunkt des Antikörpervorkommens auf Signifikanzen untersucht. Darunter das Geschlecht, Alter, die Krankheitsgenese, das Vorkommen von HCC und Zirrhose vor LT, der BMI, Todesfall oder Re-LT zum Zeitpunkt des Follow-ups, die Rejektionszahl, dokumentierte Gallengangauffälligkeiten und spezifisch das Vorkommen einer ITBL (Tabelle 8).

Es wurden 147 Patient*innen mit HLA-Ak mit 144 Patient*innen ohne diese Antikörper verglichen und zueinander ins Verhältnis gesetzt.

Bei den Parametern Geschlecht (m:w; 79 (53,7%):68 (46,3%) vs. 90 (62,5%):54 (37,5%); p=0,130), Alter in Jahren (< 50: 29 (19,7%) vs. 26 (18,1%); >= 50: 118 (80,3%) vs. 118 (81,9%); p=0,716), Ätiologie (alkohol-toxisch: 42 (28,6%) vs. 41 (28,5%); p=0,092) und BMI (BMI 18-25: 75 (51,0%) vs. 66 (46,8%); p=0,316) lag keine Assoziation mit dem Vorkommen von HLA-Ak vor. Die Auswertung der relativen Zahlen zwischen den LT-Indikationen zeigte ein auffälliges Ergebnis bei Patient*innen mit einer viralen Ätiologie

(27 (18,4%) vs. 46 (31,9%)). Eine spezifische Betrachtung dieses Merkmals folgte und ergab eine signifikant unterschiedliche Verteilung des HLA-Ak Vorkommens bei viraler Vorerkrankung. Diese Patient*innen wiesen weniger HLA-Ak auf (27 (18,4%) vs. 46 (31,9%); $p=0,008$).

Ähnliches konnte bei Dokumentation eines HCC vor LT beobachtet werden. Bei Patient*innen mit HCC in der Anamnese hatte ein signifikant geringerer Anteil HLA-Ak (20 (13,6%) vs. 36 (25,0%); $p=0,014$).

Kein Zusammenhang des Vorkommens der HLA-Ak ergab sich mit der Anzahl an verstorbenen Patient*innen (13 (8,8%) vs. 13 (9,0%); $p=0,956$), Re-LT (14 (9,5%) vs. 9 (6,3%); $p=0,301$) oder Abstoßungsreaktionen ($p=0,094$) (Tabelle 8).

Auffälligkeiten an den Gallengängen waren in unserer Auswertung nicht mit HLA-Ak assoziiert (Gallengangsauffälligkeiten vorbeschrieben: 49 (33,3%) vs. 37 (25,7%); $p=0,153$). Auch eine Subgruppenanalyse mit dem Fokus auf eine ITBL ergab keine signifikanten Ergebnisse und zeigte keine Assoziation mit HLA-Ak (ITBL dokumentiert: 10 (27,0%) vs. 6 (23,1%); $p=0,723$) (Tabelle 8).

Tabelle 8: Assoziation der Patient*innencharakteristika mit HLA-Ak und DSA

	HLA-Ak (n=291)			DSA (n=271)		
	positiv (n=147)	negativ (n=144)	p-Wert	positiv (n=80)	negativ (n=191)	p-Wert
Geschlecht						
männlich	79 (53,7)	90 (62,5)	0,130	46 (57,5)	113 (59,2)	0,800
weiblich	68 (46,3)	54 (37,5)		34 (42,5)	78 (40,8)	
Alter (in Jahren)						
< 50	29 (19,7)	26 (18,1)	0,716	21 (26,2)	32 (16,8)	0,072
>= 50	118 (80,3)	118 (81,9)		59 (73,8)	159 (83,2)	
Ätiologie						
kryptogen	7 (4,8)	7 (4,9)	0,092	5 (6,3)	9 (4,7)	0,124
alkoholisch	42 (28,6)	41 (28,5)		23 (28,7)	54 (28,3)	
viral	27 (18,4)	46 (31,9)		12 (15,0)	58 (30,4)	
autoimmun	27 (18,4)	26 (18,1)		14 (17,5)	31 (16,2)	
metabolisch	10 (6,8)	6 (4,2)		7 (8,8)	8 (4,2)	
kongenital	8 (5,4)	7 (4,9)		4 (5,0)	10 (5,2)	
Akutes Leberversagen	14 (9,5)	5 (3,5)		9 (11,3)	9 (4,7)	
Sonstiges	12 (8,2)	6 (4,2)		6 (7,5)	12 (6,3)	
Viral						
ja	27 (18,4)	46 (31,9)	0,008	12 (15,0)	58 (30,4)	0,008
nein	120 (81,6)	98 (68,1)		68 (85,0)	133 (69,6)	
Ausmaß						
keine Zirrhose	19 (12,9)	15 (10,4)	0,047	10 (12,5)	22 (11,5)	0,618
Zirrhose mit HCC	20 (13,6)	36 (25,0)		13 (16,3)	41 (21,5)	
Zirrhose ohne HCC	108 (73,5)	93 (64,6)		57 (71,3)	128 (67,0)	
HCC						
ja	20 (13,6)	36 (25,0)	0,014	13 (16,3)	41 (21,5)	0,327
nein	127 (86,4)	108 (75,0)		67 (83,8)	150 (78,5)	
BMI						
< 18	4 (2,7)	3 (2,1)	0,316	2 (2,5)	4 (2,1)	0,748
18-25	75 (51,0)	66 (46,8)		41 (51,2)	88 (46,8)	
26-29	30 (20,4)	42 (29,8)		17 (21,3)	52 (27,7)	
> 29	38 (25,9)	30 (21,3)		20 (25,0)	44 (23,4)	
Akute Rejektionen						
keine	68 (46,3)	82 (56,9)	0,094	39 (48,8)	104 (54,5)	0,163
1	46 (31,3)	43 (29,9)		21 (26,3)	60 (31,4)	
> 1	23 (15,6)	16 (11,1)		14 (17,5)	21 (11,0)	
> 3	10 (6,8)	3 (2,1)		6 (7,5)	6 (3,1)	
GG-Auffälligkeiten*						
ja	49 (33,3)	37 (25,7)	0,153	31 (38,8)	52 (27,2)	0,060
nein	98 (66,7)	107 (74,3)		49 (61,3)	139 (72,8)	
ITBL						
ja	10 (27,0)	6 (23,1)	0,723	8 (42,1)	8 (19,5)	0,066
nein	27 (73,0)	20 (76,9)		11 (57,9)	33 (80,5)	

* GG-Auffälligkeiten – Gallengangsuffälligkeiten

(80)

3.3.2 Assoziation mit DSA

Die oben aufgeführten Patient*innencharakteristika wurden ebenso auf einen Zusammenhang mit dem Vorkommen von DSA bei den Patient*innen untersucht. Ausgewertet wurden 80 Patient*innen mit DSA und 191 Patient*innen ohne diese Antikörperspezifität.

Entsprechend der HLA-Ak wurde keine Abhängigkeit der Parameter Geschlecht (m:w; 46 (57,5%):34 (42,5%) vs. 113 (59,2%):78 (40,8%); $p=0,800$), BMI (BMI 18-25: 41 (51,2%) vs. 88 (46,8%); $p=0,748$) oder Ätiologie der Lebererkrankung (beispielsweise alkoholtoxisch: 23 (28,7%) vs. 54 (28,3%); $p=0,124$) in Bezug auf das Vorkommen von DSA beobachtet (Tabelle 8).

Mit Hinblick auf die relative Verteilung fiel ein größerer Anteil von Patient*innen mit DSA in der Altersgruppe unter 50 Jahren (21 (26,2%) vs. 32 (16,8%)) als in der Gruppe der älteren Patient*innen (59 (73,8%) vs. 159 (83,2%); $p=0,072$) auf. Allerdings ohne eine signifikante Untermauerung dieser Daten.

In Analogie zum HLA-Ak Status ergab sich bei spezifischer Betrachtung der viralen Transplantationsindikationen ein signifikant geringeres DSA-Vorkommen bei HCV- oder HBV-assoziiierter Zirrhose (12 (15,0%) vs. 58 (30,4%); $p=0,008$).

Es ergab sich in unserer Kohorte keine Abhängigkeit zwischen einem HCC in der Anamnese und dem Vorkommen von DSA. Bezogen auf die relative Verteilung ergab sich eine nicht signifikante Tendenz zu einer geringeren Wahrscheinlichkeit von DSA bei Vorliegen eines HCC (13 (16,3%) vs. 41 (21,5%); $p=0,327$).

Die aufgenommenen Merkmale Todesfall (6 (7,5%) vs. 20 (10,5%); $p=0,449$) und Re-LT bis zum Erhebungszeitraum (8 (10,0%) vs. 14 (7,3%); $p=0,463$) sowie die Anzahl der Episoden akuter Abstoßungen bzw. Rejektionen (einmalige Rejektion: 21 (26,3%) vs. 60 (31,4%); $p=0,163$) ergaben in unserer Auswertung keine signifikanten Zusammenhänge mit den DSA bei Patient*innen.

Eine Betrachtung der anamnestisch vorbeschriebenen Gallengangsauffälligkeiten (anastomotische Stenosen, ITBL, Rezidive einer PSC) ergab außerdem keinen signifikanten Zusammenhang, allerdings eine Tendenz innerhalb der relativen Verteilung zu einem höheren Anteil dieser Pathologien bei Vorliegen von DSA (31 (38,8%) vs. 52 (27,2%); $p=0,060$). Bei spezifischer Betrachtung einer ITBL innerhalb dieser Gruppe fällt eine nicht signifikante, aber relativ höhere Verteilung von Patient*innen mit ITBL bei gleichzeitig vorliegenden DSA auf (8 (42,1%) vs. 8 (19,5%); $p=0,066$) (Tabelle 8).

3.4 Auswertung der Spender*innencharakteristika

3.4.1 Assoziation mit HLA-Antikörpern

Die vorliegenden Spender*innencharakteristika wurden bezüglich des Vorliegens von HLA-Ak und DSA bei den Empfänger*innen verglichen und auf Verteilungsunterschiede untersucht (Tabelle 9).

Die Parameter Geschlecht (m:w; 77 (54,2%):65 (45,8%) vs. 80 (55,9%):63 (44,1%); $p=0,771$), Alter zum Todeszeitpunkt (< 50 : 65 (45,8%) vs. 67 (46,9%); $p=0,855$), der BMI (BMI 18-25: 79 (58,1%) vs. 82 (59,4%); $p=0,622$) und die Liegezeit auf ITS (5-10 Tage: 22 (15,4%) vs. 24 (16,7%); $p=0,539$) wurden ausgewertet und ergaben keine Assoziation mit dem Vorliegen von HLA-Ak bei den Empfänger*innen (Tabelle 9).

Es gab Unterschiede in den verfügbaren Daten und damit Fallzahlen in den jeweiligen Gruppen. Die Merkmale Geschlecht und Alter waren von 285 Spender*innen der Kohorte mit insgesamt 291 Empfänger*innen retrospektiv verfügbar. Damit lag für beide Parametern eine Fallzahl von 142 Spender*innendaten für Patient*innen mit HLA-Ak zu 143 der Spender*innendaten für Patient*innen ohne HLA-Ak vor. Zur Untersuchung des Einflusses durch DSA wurden 77 vorliegende Spender*innendaten für Patient*innen mit DSA und 189 Spender*innendaten für Patient*innen ohne DSA verglichen.

Der BMI lag bei 274 Spender*innen vor. Er verteilte sich auf 136 Spender*innen für Patient*innen mit HLA-Ak und 138 ohne HLA-Ak auf. Für Patient*innen mit DSA lagen 73 Spender*innendaten vor und wurden mit der Gruppe der Patient*innen ohne DSA mit 183 Spender*innendaten verglichen.

Die ITS-Zeit vor Organentnahme lag von 287 Spender*innen vor. Davon 143 für Patient*innen mit HLA-Ak zu 144 ohne HLA-Ak. Für Empfänger*innen mit DSA lagen 77 und für Patient*innen ohne DSA 191 Spender*innendaten vor (Tabelle 7).

3.4.2 Assoziation mit DSA

Die vorliegenden Merkmale der Spender*innen wurden weiterhin auf einen Zusammenhang mit den DSA der Empfänger*innen untersucht. Analog zur Auswertung der HLA-Ak ergab sich keine Assoziation der DSA mit den Merkmalen Geschlecht (m:w; 40 (51,9%):37 (48,1%) vs. 105 (55,6%):84 (44,4%); $p=0,592$) und Alter (< 50 : 30 (39,0%) vs. 87 (46,0%); $p=0,292$).

Die DSA waren nicht vom BMI (BMI 18-25: 44 (60,3%) vs. 105 (57,3%); p=0,605) oder der ITS-Zeit (5-10 Tage: 13 (16,9%) vs. 31 (16,2%); p=0,966) der Spender*innen abhängig (Tabelle 9).

Tabelle 9: Assoziation der Spender*innencharakteristika mit HLA-Ak und DSA

	HLA-Ak		p-Wert	DSA		p-Wert
	positiv	negativ		positiv	negativ	
Geschlecht*						
männlich	77 (54,2)	80 (55,9)	0,771	40 (51,9)	105 (55,6)	0,592
weiblich	65 (45,8)	63 (44,1)		37 (48,1)	84 (44,4)	
Alter (Jahre)*						
< 50	65 (45,8)	67 (46,9)	0,855	30 (39,0)	87 (46,0)	0,292
>= 50	77 (54,2)	76 (53,1)		47 (61,0)	102 (54,0)	
BMI**						
< 18	1 (0,7)	0 (0,0)	0,622	0 (0,0)	1 (0,5)	0,605
18-25	79 (58,1)	82 (59,4)		44 (60,3)	105 (57,4)	
26-29	39 (28,7)	43 (31,2)		19 (26,0)	59 (32,2)	
> 29	17 (12,5)	13 (9,4)		10 (13,7)	18 (9,8)	
ITS-Zeit (Tage)***						
< 5	102 (71,3)	97 (67,4)	0,539	51 (66,2)	132 (69,1)	0,966
5-10	22 (15,4)	24 (16,7)		13 (16,9)	31 (16,2)	
10-15	15 (10,5)	14 (9,7)		9 (11,7)	19 (9,9)	
> 15	4 (2,8)	9 (6,3)		4 (5,2)	9 (4,7)	

*Daten verfügbar von 285 Spender*innen

**Daten von 274 Spender*innen

***Daten von 287 Spender*innen

3.5 Auswertung der Immunsuppression

3.5.1 Assoziation mit HLA-Antikörpern

Die immunsuppressive Medikation der Kohorte wurde durch uns erfasst (Tabelle 5) und auf einen Einfluss auf das Vorkommen der Antikörper evaluiert.

Keine Assoziation zwischen der Einnahme von CNI und HLA-Ak konnte ermittelt werden. Sowohl bei der Einnahme von Tac (120 (81,6%) vs. 123 (85,4%); p=0,674) als auch von CyA (16 (10,9%) vs. 13 (9,0%); p=0,674) kam es zu einer näherungsweisen Gleichverteilung.

Auch die Einnahme in Mono- oder Kombinationstherapie der CNI ergab keinen Unterschied in der Verteilung (Monotherapie: 55 (40,4%) vs. 49 (36,0%); $p=0,454$).

Die Einnahme von MMF zeigte keine Assoziation zum Vorkommen der HLA-Ak (82 (55,8%) vs. 72 (50,0%); $p=0,323$). Weder die Einnahme von MMF in Monotherapie (9 (6,1%) vs. 4 (2,8%); $p=0,167$) noch Dualtherapie (138 (93,9%) vs. 140 (97,2%); $p=0,167$) wirkte sich auf das Vorkommen der HLA-Ak aus.

Eine Auffälligkeit konnte bei der Auswertung der mTORi Einnahme beobachtet werden. Bei Einnahme von mTORi Präparaten (z.B. EVR, Sirolimus) wies ein signifikant geringerer Anteil an Patient*innen HLA-Ak auf (10 (6,8%) vs. 23 (16,0%); $p=0,014$).

In Bezug auf eine Untersuchung des Einflusses des Tac Serumtalspiegels in ng/ml konnte durch uns keine signifikante Abhängigkeit des Vorkommens von HLA-Ak nachgewiesen werden (Standarddosis: 57 (42,9%) vs. 56 (42,4%); $p=0,943$) (Tabelle 10).

Tabelle 10: Assoziation der Immunsuppression der Empfänger*innen mit HLA-Ak und DSA

	HLA-Ak (n=291)			DSA (n=271)		
	positiv (n=147)	negative (n=144)	p-Wert	positiv (n=80)	negativ (n=191)	p-Wert
CNI						
CyA	16 (10,9)	13 (9,0)	0,674	9 (11,3)	16 (8,4)	0,756
Tac	120 (81,6)	123 (85,4)		66 (82,5)	163 (85,3)	
ohne	11 (7,5)	8 (5,6)		5 (6,3)	12 (6,3)	
MMF						
ja	82 (55,8)	72 (50,0)	0,323	44 (55,0)	96 (50,3)	0,476
nein	65 (44,2)	72 (50,0)		36 (45,0)	95 (49,7)	
CNI						
Monotherapie	55 (40,4)	49 (36,0)	0,454	32 (42,7)	67 (37,4)	0,435
Dualtherapie	81 (59,6)	87 (64,0)		43 (57,3)	112 (62,6)	
MMF						
Monotherapie	9 (6,1)	4 (2,8)	0,167	3 (3,8)	8 (4,2)	0,867
Dualtherapie	138 (93,9)	140 (97,2)		77 (96,3)	183 (95,8)	
mTORi						
ja	10 (6,8)	23 (16,0)	0,014	4 (5,0)	28 (14,7)	0,025
nein	137 (93,2)	121 (84,0)		76 (95,0)	163 (85,3)	
Talspiegel (Tac)						
Niedrigdosis	30 (22,6)	28 (21,2)	0,943	15 (20,5)	37 (21,3)	0,950
Standard	57 (42,9)	56 (42,4)		30 (41,1)	74 (42,5)	
Hochdosis	46 (34,6)	48 (36,4)		28 (38,4)	63 (36,2)	

(80)

3.5.2 Assoziation mit DSA

Die DSA wurden ebenso auf Abhängigkeiten von dem jeweiligen Immunsuppressionsschema untersucht (Tabelle 10).

Die Häufigkeit der Patient*innen mit DSA hing nicht von der Einnahme der CNI ab. Sowohl für Tac (66 (82,5%) vs. 163 (85,3%)) als auch für CyA (9 (11,3%) vs. 16 (8,4%); $p=0,756$) ergaben sich keine signifikanten Verteilungsunterschiede. Ebenso die Einnahme in Mono- (32 (42,7%) vs. 67 (37,4%)) oder Dualtherapie (43 (57,3%) vs. 112 (62,6%); $p=0,435$) ergab in unserer Auswertung keinen Zusammenhang mit dem Vorkommen von DSA.

Es ergab sich weiterhin keine Assoziation mit der Einnahme von MMF (44 (55,0%) vs. 96 (50,3%); $p=0,476$). Auch zwischen der Mono- und Dualtherapie mit MMF ergab sich eine Gleichverteilung (Dual: 77 (96,3%) vs. 183 (95,8%); $p=0,867$).

Bei Einnahme von mTORi fiel auf, dass signifikant weniger Patient*innen DSA vorwiesen (4 (5,0%) vs. 28 (14,7%); $p=0,025$). Diese Beobachtung reiht sich ein zu der Assoziation mit dem geringeren Vorkommen der HLA-Ak und der Einnahme von mTORi.

Die gemessenen Talspiegel von Tac, die in Niedrig-, Standard- und Hochdosiseinnahme anhand des Serumspegels in ng/ml unterteilt wurden, hatten keinen Einfluss auf die DSA (Standarddosis: 30 (41,1%) vs. 74 (42,5%); $p=0,950$).

3.6 Auswertung der histopathologischen Parameter

3.6.1 Assoziation mit HLA-Antikörpern

Der Fokus der Arbeit lag in einer Beobachtung der Auswirkungen der HLA-Ak und DSA auf histopathologische Auffälligkeiten des Lebergewebes. Diese wurden mittels Leberbiopsien bei 196 Patient*innen erhoben und nach den Merkmalen Fibrose, Inflammation, Steatose der Leber, Hämosiderose, Gallengangspathologien und dem Vorkommen einer Maschendrahtfibrose ausgewertet (Tabelle 6).

Das Vorkommen der HLA-Ak hatte keinen Einfluss auf eine Fibrose des Transplantats (Stadium 0-I: 56 (57,1%) vs. 61 (62,2%); $p=0,467$).

Es fiel eine signifikante Abhängigkeit einer erhöhten inflammatorischen Aktivität der Leber mit dem Vorkommen von HLA-Ak auf (Grad II-IV: 21 (21,4%) vs. 9 (9,2%); $p=0,017$).

Bei der Auswertung des Merkmal Steatose stellte sich eine umgekehrte Assoziation dar. Ein höherer Grad an Steatose war signifikant mit einem geringeren HLA-Ak Vorkommen assoziiert (Grad II-III: 7 (7,1%) vs. 17 (17,3%); $p=0,029$).

Die Beobachtung der Hämosiderose (Grad 0-I: 92 (93,9%) vs. 91 (92,9%); $p=0,774$) und der Gallengangspathologien im Punktat (auffällig: 14 (14,3%) vs. 11 (11,2%); $p=0,521$) ergaben keinen Zusammenhang mit den HLA-Ak.

Die Maschendrahtfibrose in der Leber lag anhand der relativen Verteilung bei Patient*innen mit HLA-Ak vermehrt vor. Diese Beobachtung konnte durch keine signifikanten Ergebnisse untermauert werden (vorliegend: 35 (35,7%) vs. 24 (24,5%); $p=0,087$)) (Tabelle 11).

Tabelle 11: Assoziation der histopathologischen Parameter mit HLA-Ak und DSA

	HLA-Ak (n=196)*			DSA (n=180)*		
	positiv (n=98)*	negativ (n=98)*	p-Wert	positiv (n=54)*	negativ (n=126)*	p-Wert
Fibrose						
Stadium 0-I	56 (57,1)	61 (62,2)	0,467	33 (61,1)	78 (61,9)	0,920
Stadium II-IV	42 (42,9)	37 (37,8)		21 (38,9)	48 (38,1)	
Inflammation						
Grad 0-I	77 (78,6)	89 (90,8)	0,017	40 (74,1)	111 (88,1)	0,019
Grad II-IV	21 (21,4)	9 (9,2)		14 (25,9)	15 (11,9)	
Steatose						
Grad 0-I	91 (92,9)	81 (82,7)	0,029	51 (94,4)	105 (83,3)	0,044
Grad II-III	7 (7,1)	17 (17,3)		3 (5,6)	21 (16,7)	
Hämosiderose						
Grad 0-I	92 (93,9)	91 (92,9)	0,774	51 (94,4)	118 (93,7)	0,839
Grad II-III	6 (6,1)	7 (7,1)		3 (5,6)	8 (6,3)	
GG-Pathologien**						
keine	84 (85,7)	87 (88,8)	0,521	48 (88,9)	110 (87,3)	0,766
auffällig	14 (14,3)	11 (11,2)		6 (11,1)	16 (12,7)	
Maschendrahtfibrose						
keine	63 (64,3)	74 (75,5)	0,087	36 (66,7)	94 (74,6)	0,276
vorliegend	35 (35,7)	24 (24,5)		18 (33,3)	32 (25,4)	

*Verteilung bei 196 ausgewerteten Biopsien

** GG-Pathologien – Gallengangspathologien

(80)

3.6.2 Assoziation mit DSA

Die erhobenen histopathologischen Merkmale wurden ebenfalls auf Assoziationen mit dem Vorkommen von DSA untersucht (Tabelle 11).

Ein Zusammenhang zwischen DSA und der Fibrose der Leber konnte nicht beobachtet werden (Stadium 0-I: 33 (61,1%) vs. 78 (61,9%); $p=0,920$).

Bei Betrachtung des Merkmals der Inflamationsaktivität fiel auf, dass signifikant mehr Biopsien von Patient*innen mit DSA die Inflamationsgrade II bis IV aufwiesen (14 (25,9%) vs. 15 (11,9%); $p=0,019$).

Analog zur Auswertung des Einflusses der HLA-Ak ergab sich eine inverse Abhängigkeit der Steatose von dem Vorliegen von DSA. Patient*innen ohne DSA zeigten eine signifikant stärker ausgeprägte Verfettung der Leber, als Patient*innen mit DSA (Grad 0-I: 51 (94,4%) vs. 105 (83,3%); $p=0,044$).

Der Parameter der Hämosiderose (Grad 0-I: 51 (94,4%) vs. 118 (93,7%); $p=0,839$) und das Vorkommen von Gallengangspathologien (auffällig: 6 (11,1%) vs. 16 (12,7%);

p=0,766) zeigten eine Gleichverteilung zwischen den Patient*innen mit und ohne DSA. Die Maschendrahtfibrose im histologischen Präparat war bei Betrachtung der relativen Zahlen zu Gunsten der Patient*innen mit DSA verteilt (18 (33,3%) vs. 32 (25,4%); p=0,276), ohne eine entsprechende Abhängigkeit durch ein signifikantes Ergebnis belegen zu können (Tabelle 11).

3.6.3 Logistische Regressionsanalyse

Eine adjustierte logistische Regressionsanalyse wurde für die Parameter Fibrose, Steatose, Maschendrahtfibrose und Inflammation durchgeführt. Ziel dieser Auswertung war die Suche nach Einflüssen anderer Variablen auf die Abhängigkeiten zwischen Antikörpern und histopathologischen Parametern. Untersucht wurde der Einfluss des HCC-Status, einer viral bedingten LT-Indikation und des Geschlechts der Patient*innen, abhängig der Fallzahlmenge.

Die Regressionsmodelle zeigten bezüglich Fibrose, Steatose und Maschendrahtfibrose keinen signifikanten Einfluss der genannten Parameter (Tabelle 12-14).

Dagegen zeigte sich für den Parameter Inflammation ein knapp nicht-signifikanter Anstieg in der Gruppe mit nur HLA-Ak im Serum (OR vs. kein HLA & kein DSA: 3,14; 95%-KI: 0,94-10,13; p=0,0553). Außerdem eine Signifikanz bei Nachweis von HLA-Ak und DSA in Bezug auf die Inflammation der Leber (OR vs. kein HLA & kein DSA: 4,43; 95%-KI: 1,67-12,6; p=0,0035) (Tabelle 15).

Tabelle 12: Logistische Regression für das Merkmal Fibrose

Fibrose						
Parameter	Schätzwert	Standardfehler	OR	Untere 95%-KI-Grenze	Obere 95%-KI-Grenze	p-Wert
Intercept	-0,50	0,31				0,1071
Nur HLA (vs. kein HLA, kein DSA)	0,29	0,46	1,34	0,53	3,32	0,5282
HLA & DSA (vs. kein HLA, kein DSA)	-0,02	0,37	0,98	0,48	2,01	0,9601
HCC (vs. kein HCC)	0,24	0,40	1,27	0,57	2,81	0,5482
Viral ja	-0,22	0,36	0,81	0,39	1,62	0,5493
Weiblich (vs. männlich)	0,03	0,33	1,03	0,54	1,97	0,9325
	Cox and Snell R ²	Nagelkerke R ²	DF-Diff.	Log-Lik-Diff.		c-Statistik
	0,0043	0,0057	5	-0,5	1,0	54,8

* OR- Odds Ratio; KI- Konfidenzintervall; DF-Diff.- Differenz der Freiheitsgrade im Vergleich zum Nullmodell; Log-Lik-Diff.- Log-Likelihood-Differenz zum Nullmodell; HLA- HLA-Ak (80)

Tabelle 13: Logistische Regression für das Merkmal Steatose

Steatose						
Parameter	Schätz- wert	Standard- fehler	OR	Untere	Obere	p-Wert
				95%-KI- Grenze	95%-KI- Grenze	
Intercept	-1,59	0,33				0,0000
Nur HLA (vs. kein HLA, kein DSA)	-0,20	0,60	0,82	0,22	2,48	0,7428
HLA, DSA (vs. kein HLA, kein DSA)	-1,24	0,66	0,29	0,06	0,95	0,0621
Viral ja	0,10	0,47	1,11	0,43	2,74	0,8267
	Cox and		DF-			
McFadden R ²	Snell R ²	Nagelkerke R ²	Diff.	Log-Lik-Diff.	Chi ²	c-Statistik
0,0341	0,0267	0,0488	-3	-2,40	4,79	61,4

* OR- Odds Ratio; KI- Konfidenzintervall; DF-Diff.- Differenz der Freiheitsgrade im Vergleich zum Nullmodell; Log-Lik-Diff.- Log-Likelihood-Differenz zum Nullmodell; HLA- HLA-Ak (80)

Tabelle 14: Logistische Regression für das Merkmal Maschendrahtfibrose

Maschendrahtfibrose						
Parameter	Schätz- wert	Standard- fehler	OR	Untere	Obere	p-Wert
				95%-KI- Grenze	95%-KI- Grenze	
Intercept	-1,18	0,36				0,0009
Nur HLA (vs. kein HLA, kein DSA)	0,38	0,50	1,46	0,53	3,8	0,4478
HLA, DSA (vs. kein HLA, kein DSA)	0,54	0,40	1,71	0,78	3,75	0,1798
HCC (vs. kein HCC)	0,64	0,43	1,89	0,81	4,39	0,1361
Viral ja	-0,43	0,41	0,65	0,28	1,42	0,2885
Weiblich (vs. männlich)	0,01	0,36	1,01	0,49	2,07	0,9765
	Cox and		DF-			c-
McFadden R ²	Snell R ²	Nagelkerke R ²	Diff.	Log-Lik-Diff.	Chi ²	Statistik
0,0260	0,0306	0,0439	-5	-2,68	5,37	61

* OR- Odds Ratio; KI- Konfidenzintervall; DF-Diff.- Differenz der Freiheitsgrade im Vergleich zum Nullmodell; Log-Lik-Diff.- Log-Likelihood-Differenz zum Nullmodell; HLA- HLA-Ak (80)

Tabelle 15: Logistische Regression für das Merkmal Inflammation

Inflammation						
Parameter	Schätzwert	Standard- fehler	OR	Untere 95%- KI-Grenze	Obere 95%-KI- Grenze	p-Wert
				Intercept	-2,66	
Nur HLA (vs. kein HLA & kein DSA)	1,14	0,60	3,14	0,94	10,13	0,0553
HLA, DSA (vs. kein HLA, kein DSA)	1,49	0,51	4,43	1,67	12,6	0,0035
HCC (vs. kein HCC)	0,48	0,51	1,62	0,57	4,29	0,3466
Viral ja	0,51	0,47	1,67	0,65	4,25	0,2776
McFadden R ²	Cox and Snell R ²	Nagelkerke R ²	DF-Diff.	Log-Lik-Diff.	Chi ²	c-Statistik
0,0654	0,0566	0,0960	-4	-5,16	10,32	68,1

* OR- Odds Ratio; KI- Konfidenzintervall; DF-Diff.- Differenz der Freiheitsgrade im Vergleich zum Nullmodell; Log-Lik-Diff.- Log-Likelihood-Differenz zum Nullmodell; HLA- HLA-Ak (80)

3.7 Auswertung der Laborwerte

Bei der Erstellung aller Boxplots wurden Ausreißer zum Teil nicht mitabgebildet. Das passierte im Sinne der Anschaulichkeit und der besseren visuellen Vergleichbarkeit der Stichproben (Abbildung 1-14).

3.7.1 Einfluss der HLA-Antikörper

3.7.1.1 Transaminasen

Im Folgenden werteten wir die Transaminasen (ALT, AST) im Blut der Patient*innen aus und untersuchten auf einen Einfluss durch das Vorkommen von HLA-Ak. Eine visuelle Darstellung erfolgte mit Hilfe von Boxplots. Statistisch wurden die Gruppen durch den MWU-Test ausgewertet.

Die ALT konnte bei 290 der 291 eingeschlossenen Patient*innen bestimmt und ausgewertet werden. Zur Einordnung wurde ein Referenzbereich von unter 34 U/l bei Frauen und unter 45 U/l bei Männern verwendet. Als Mittelwert in unserer Auswertung für alle Patient*innen ergab sich ein Wert von 25,5 U/l (18,8; SD) und ein Median von 21 U/l (5-219; min-max).

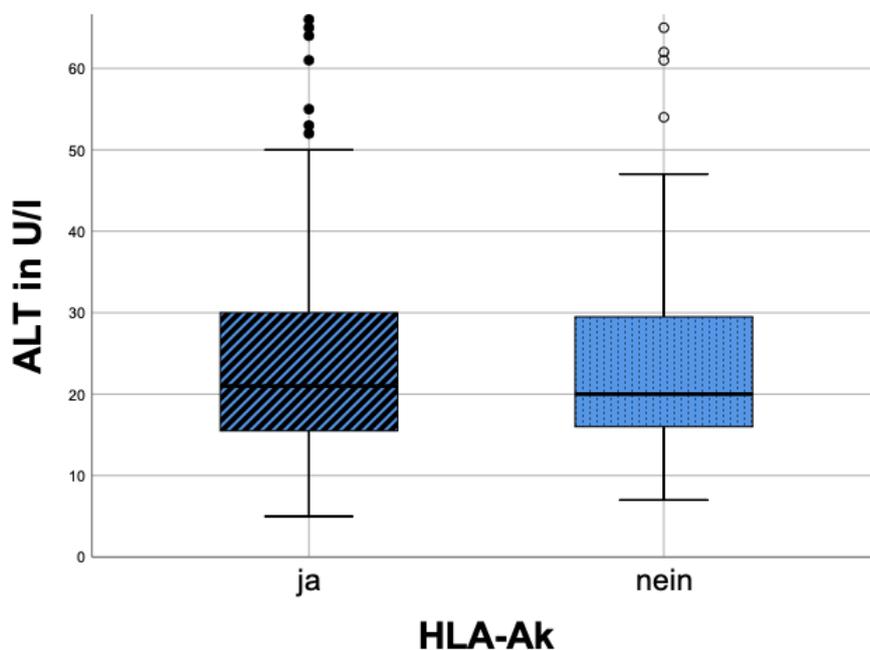


Abbildung 1: ALT in U/l zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom HLA-Ak Vorkommen (Mediane: 21 U/l vs. 20 U/l), (MWU: 145,5 vs. 145,5; $p=0,993$)

Beim Vergleich der Boxplots für Patient*innen mit und ohne HLA-Ak ließ sich kein relevanter Unterschied in der Verteilung der ALT eruieren (Abbildung 1). Der Median der

ALT bei 147 Patient*innen mit HLA-Ak lag bei 21 U/l, bei 143 Patient*innen ohne HLA-Ak lag der Wert bei 20 U/l.

Der Vergleich der mittleren Ränge beider Stichproben (145,5 vs. 145,5; $p=0,993$) durch den MWU-Test bestätigt, dass in unserer Kohorte die ALT nicht von den HLA-Ak abhängig war.

Die AST wurde bei 290 Patient*innen abgenommen und anhand eines Referenzbereiches von unter 35 U/l bei Frauen und unter 50 U/l bei Männern eingeordnet. Als Mittelwert dieser Transaminase konnte ein Wert von 31,3 U/l (32,3; SD) in unserer Kohorte berechnet werden. Es ergab sich ein Median von 26 U/l (12-539; min-max).

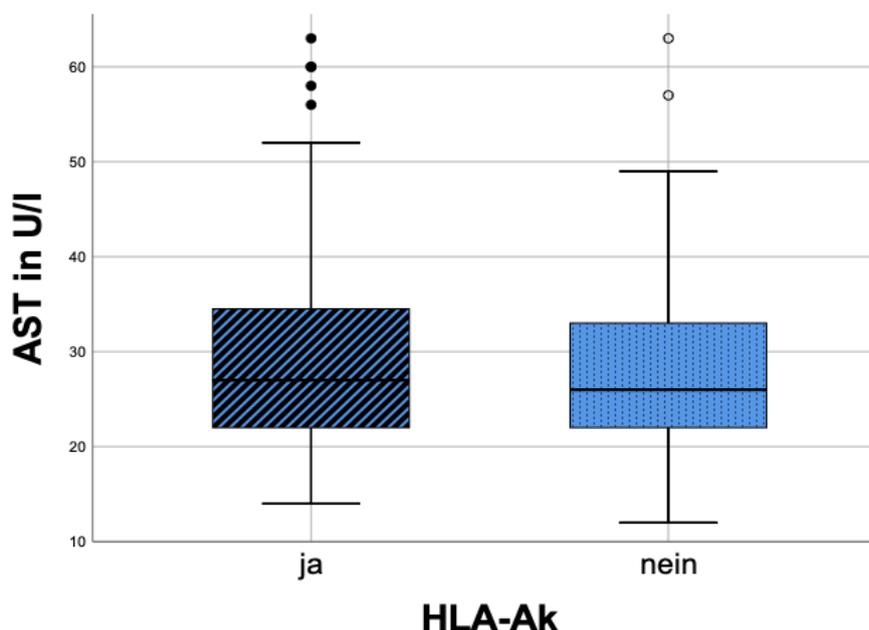


Abbildung 2: AST in U/l zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom HLA-Ak Vorkommen (Mediane: 27 U/l vs. 26 U/l), (MWU: 151,3 vs. 139,6; $p=0,236$)

Der visuelle Vergleich beider Boxplots zeigte keine offensichtlichen Unterschiede bei einem Median von 27 U/l bei Vorliegen von HLA-Ak und einem Median von 26 U/l ohne das Vorliegen von HLA-Ak (Abbildung 2).

Der Vergleich der mittleren Ränge (151,3 vs. 139,6; $p=0,236$), der nicht-gleichverteilten Stichprobe, mit Hilfe des nicht-parametrischen MWU-Tests ergab keinen signifikanten Unterschied.

3.7.1.2 Cholestaseparameter

Wir werteten die AP, das GGT und das Bilirubin auf einen Verteilungsunterschied zwischen der Gruppe mit und ohne HLA-Ak aus. Der Einfluss dieser Antikörper auf eine Cholestase mit laborchemischem Korrelat wurde untersucht. Die AP und GGT wurde bei 290 Patient*innen abgenommen, das Bilirubin bei 287 Patient*innen.

Wir ordneten die Laborwerte in die gängigen Referenzwerte der Charité - Universitätsmedizin Berlin ein und stellten sie im Zusammenhang zu dem Auftreten der HLA-Ak visuell in Boxplots dar (Abbildung 3-5).

Die AP war im Normbereich zwischen 35 und 104 U/l bei weiblichen Patientinnen und zwischen 40 und 129 U/l bei männlichen Patienten. Das GGT war normwertig unter 38 U/l bei Frauen und unter 55 U/l bei Männern. Das Gesamt-Bilirubin sollte unter 1 mg/dl bei allen Patient*innen liegen.

In unserer Auswertung aller Patient*innen ergab sich für die AP ein Mittelwert von 103,4 U/l (66,4; SD) und ein Median von 84 U/l (31-467; min-max). In der visuellen Darstellung fiel kein wesentlicher Unterschied zwischen den beiden Gruppen mit und ohne HLA-Ak auf (Abbildung 3). Der Median für die Gruppe mit HLA-Ak lag bei 85 U/l, ohne HLA-Ak lag dieser bei 82 U/l. Der Vergleich der mittleren Ränge im MWU-Test ergab keinen signifikanten Einfluss durch die HLA-Ak (148,2 vs. 142,8; $p=0,583$).

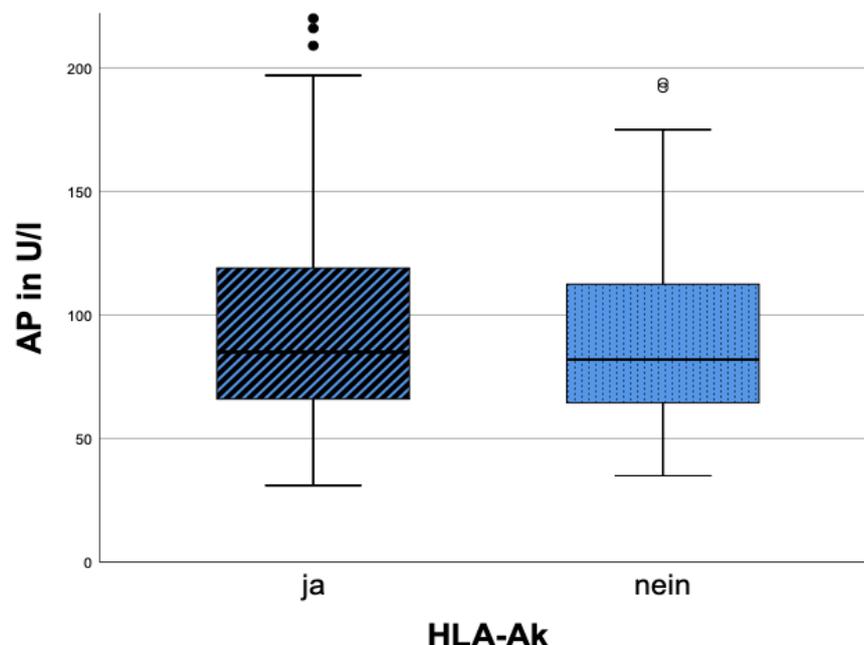


Abbildung 3: AP in U/l zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom HLA-Ak Vorkommen (Mediane: 85 U/l vs. 82 U/l), (MWU: 148,2 vs. 142,8; $p=0,583$)

Für das GGT aller Patient*innen konnte ein Mittelwert von 59,6 U/l (86,4; SD) ermittelt werden sowie ein Median von 29 U/l (8-903; min-max).

Bei Betrachtung der Boxplots für diesen Laborwert fielen höhere GGT Werten bei den Patient*innen mit HLA-Ak auf (Abbildung 4). Die Mediane der beiden Gruppen verifizieren diese Vermutung (Mediane: 32 U/l vs. 28 U/l). In der statistischen Auswertung mittels des MWU-Tests ließ sich kein signifikanter Unterschied in der Verteilung berechnen (153,5 vs. 137,2; $p=0,097$).

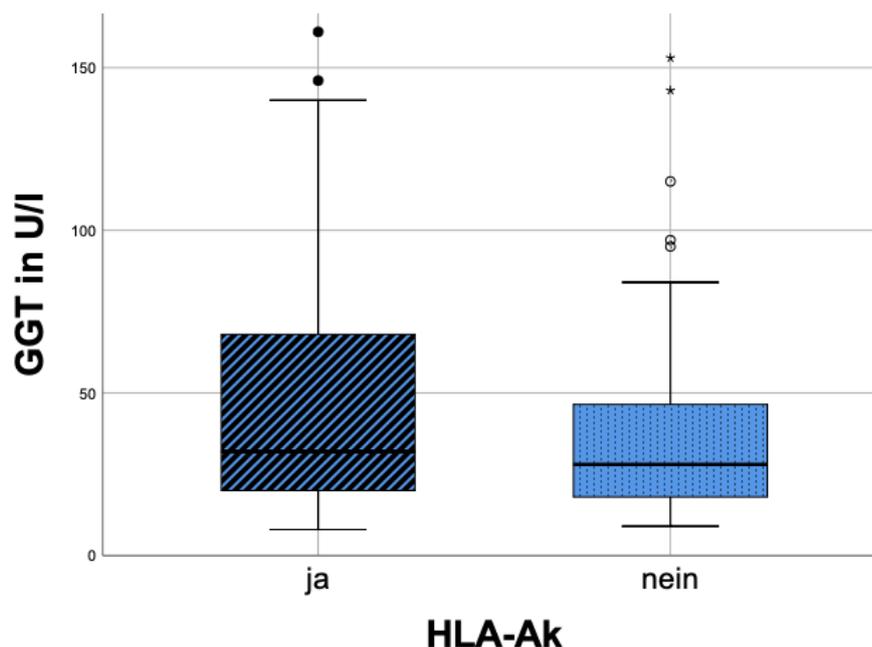


Abbildung 4: GGT in U/l zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom HLA-Ak Vorkommen (Mediane: 32 U/l vs. 28 U/l), (MWU: 153,5 vs. 137,2; $p=0,097$)

Das Bilirubin der Kohorte lag im Mittelwert bei 0,7 mg/dl (1,3; SD), der Median bei 0,5 mg/dl (0,2-20,4 mg/dl; min-max).

Sowohl visuell bei Betrachtung der Boxplots als auch beim Vergleich der Mediane für die Gruppen mit und ohne HLA-Ak (Mediane: 0,6 mg/dl vs. 0,5 mg/dl) fiel ein Verteilungsunterschied auf (Abbildung 5). Patient*innen mit HLA-Ak wiesen höhere Bilirubinwerte auf, als Patient*innen ohne diesen Nachweis. Mittels der Auswertung durch den MWU-Test konnte auf das Gesamt-Bilirubin ein eindeutig signifikanter Einfluss durch die HLA-Ak ermittelt werden (157,4 vs. 130,3; $p=0,006$).

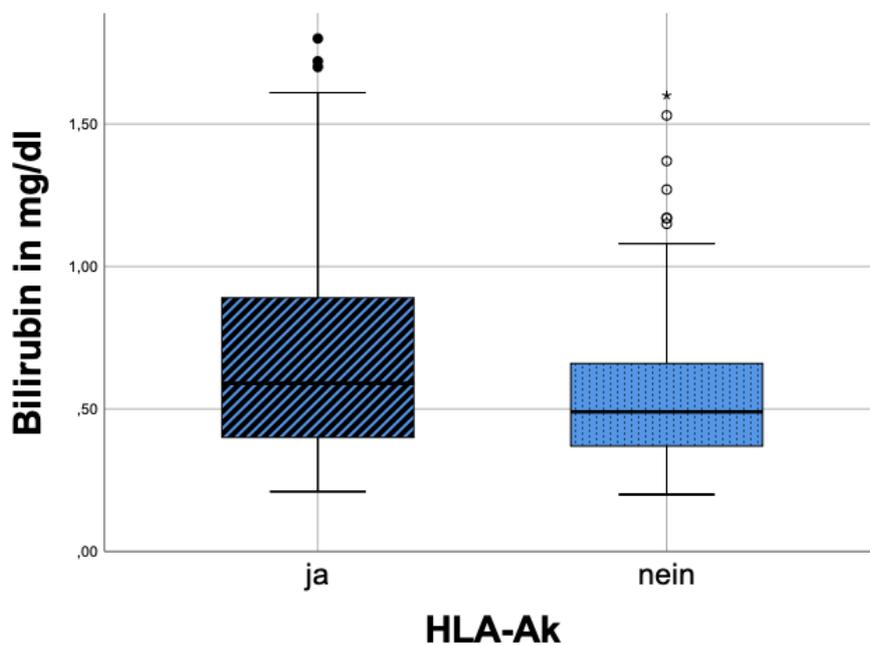


Abbildung 5: Bilirubin in mg/dl zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom HLA-Ak Vorkommen (Mediane: 0,6 mg/dl vs. 0,5 mg/dl), (MWU: 157,4 vs. 130,3; $p=0,006$)

3.7.1.3 Kreatinin und INR

Über die Marker der Inflammation wurden die Syntheseleistung der Leber, stellvertretend der Gerinnungsparameter INR sowie das Kreatinin als Parameter der Nierenfunktion mit dem Vorhandensein von HLA-Ak und DSA in Assoziation gesetzt.

Das Kreatinin lag im Normbereich, wenn es bei Frauen unter 1 mg/dl und bei Männern unter 1,2 mg/dl war. Die INR als Standardisierung des Quick-Wertes war zwischen 0,9 und 1,3 normwertig.

Eine Bestimmung des Kreatinins erfolgte bei 290 Patient*innen. Zur Fehlervermeidung durch den Einschluss der Patient*innen mit einem akuten Nierenversagen, schlossen wir bei der Auswertung Patient*innen mit einer Kreatininerhöhung über 4 mg/dl aus. Entsprechend konnten die Daten von 278 Patient*innen ausgewertet werden. Für diesen Anteil der Kohorte ergab sich ein Mittelwert von 1,2 mg/dl (0,4; SD) und ein Median von 1,1 mg/dl (0,5-3,3; min-max).

Als unauffällig stellte sich der Vergleich durch die Boxplots sowie der Mediane dar (Mediane: 1,1 mg/dl vs. 1,1 mg/dl; Abbildung 6).

Der MWU-Test ergab ebenso keine signifikanten Verteilungsunterschiede (139,3 vs. 139,7; $p=0,971$) und entsprechend keine Abhängigkeit des Kreatinins von den HLA-Ak.

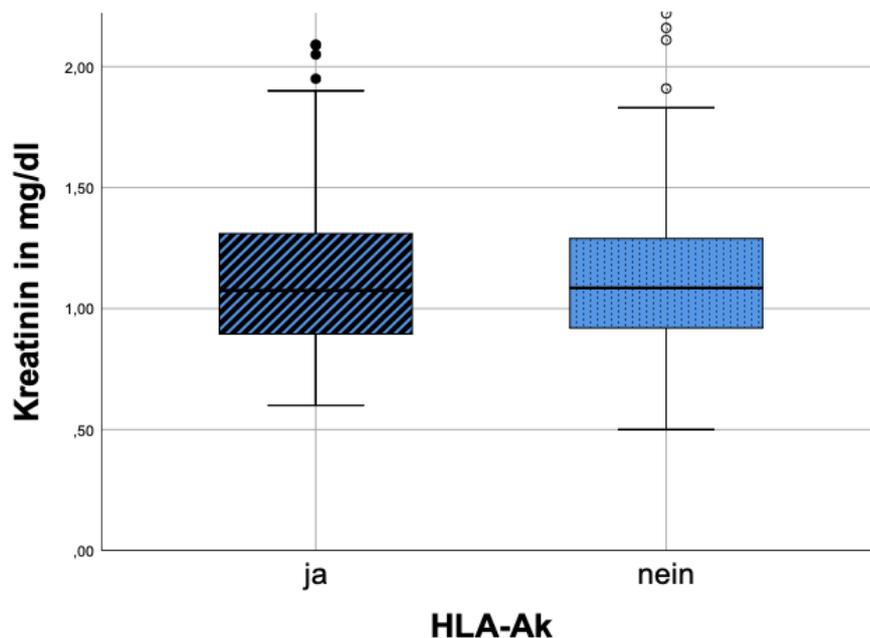


Abbildung 6: Kreatinin in mg/dl zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom HLA-Ak Vorkommen (Mediane: 1,1 mg/dl vs. 1,1 mg/dl), (MWU: 139,3 vs. 139,7; $p=0,971$)

Die INR, welche bei 284 Patient*innen bestimmt wurde, lag im Mittel bei 1,1 (0,2; SD) und im Median bei 1,0 (0,9-2,7; min-max).

Im visuellen Vergleich, durch Boxplots dargestellt, zeigten sich keine relevanten Unterschiede zwischen der Gruppe mit und ohne HLA-Ak (Abbildung 7). Die Mediane (1,01 vs. 1,01) bestätigen diese Beobachtung.

Die Auswertung der INR in Bezug auf das HLA-Ak Vorkommen mit Hilfe des MWU-Tests ergab keine signifikante Assoziation (147,5 vs. 137,4; $p=0,302$).

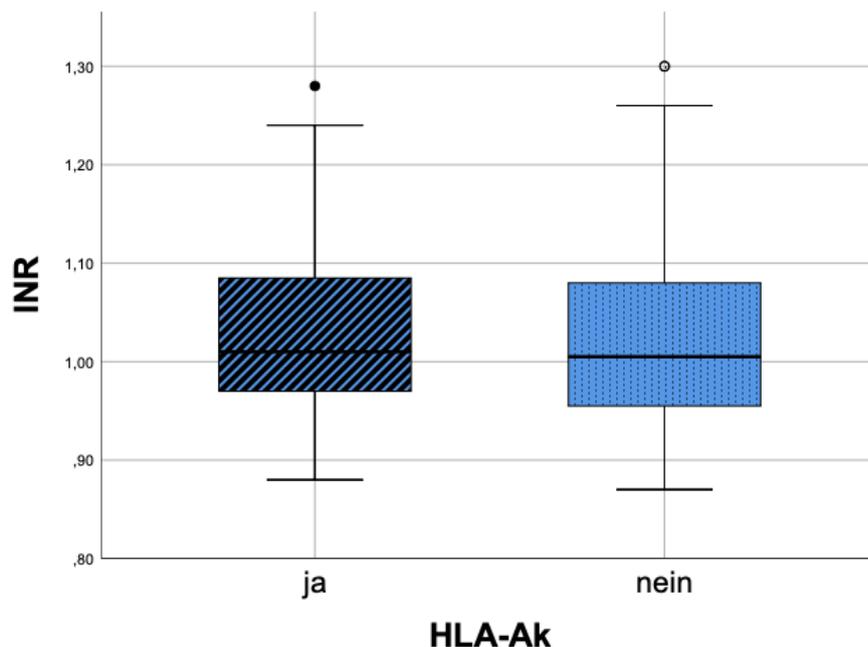


Abbildung 7: INR zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom HLA-Ak Vorkommen (Mediane: 1,0 vs. 1,0), (MWU: 147,5 vs. 137,4; $p=0,302$)

3.7.2 Einfluss der DSA

3.7.2.1 Transaminasen

Das Vorkommen der DSA wurde weiterhin mit den jeweils erhobenen Laborparametern ins Verhältnis gesetzt.

Bei 271 Patient*innen wurden die DSA bestimmt. In dieser Kohorte erfolgte eine Bestimmung der Transaminasen ALT und AST bei 270 Patient*innen.

Unter diesen Patient*innen lag der Mittelwert der ALT bei 25,6 U/l (19,1; SD) und der Median bei 21 U/l (5-219; min-max).

Bereits visuell ließen sich anhand der Boxplots grundlegend höhere ALT-Werte bei den Patient*innen mit DSA erkennen (Abbildung 8). Ein Vergleich der Mediane (22 U/l vs. 20 U/l) zeigte Verteilungsunterschiede, doch mangelt es bei fehlender Normalverteilung der Werte an Aussagekraft. Im nicht-parametrischen MWU-Test zeigte sich jedoch der signifikante Einfluss der DSA auf die ALT durch einen Vergleich der mittleren Ränge der beiden Gruppen (150,4 vs. 129,2; $p=0,042$). Es lag entsprechend ein signifikant höherer ALT-Wert bei Patient*innen mit DSA vor.

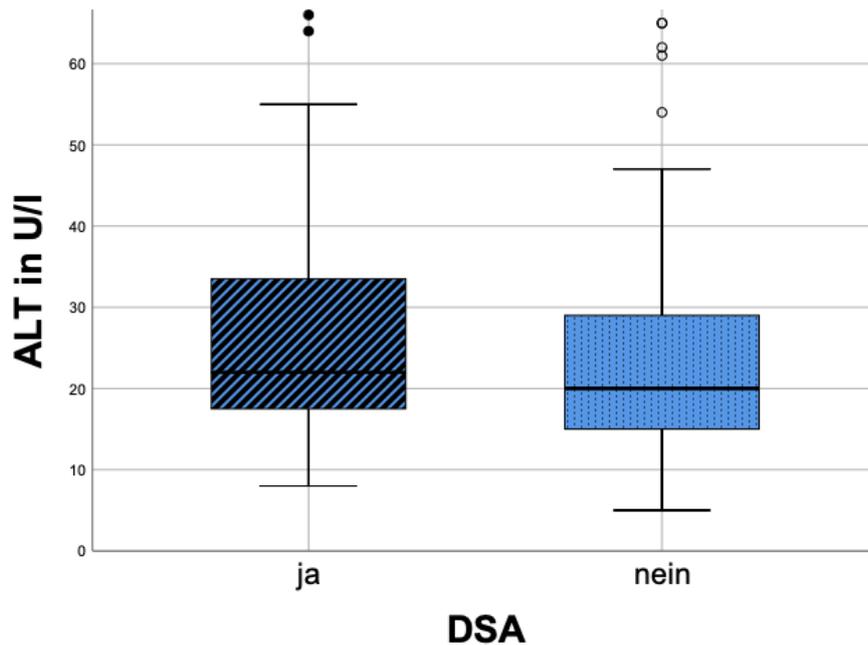


Abbildung 8: ALT in U/l zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom DSA Vorkommen (Mediane: 22 U/l vs. 20 U/l), (MWU: 150,4 vs. 129,2; $p=0,042$)

Eine Auswertung des Einflusses der DSA auf die AST wurde durchgeführt. Es ergab sich ein Mittelwert von 31,3 (33,3; SD) und ein Median von 26 (12-539; min-max) unter allen betrachteten Patient*innen.

Im Vergleich der Boxplots ließ sich bereits ein visuell ersichtlicher Unterschied in der Verteilung zwischen der Gruppe mit und ohne DSA bezüglich der AST erahnen. Der Median der Gruppe mit DSA lag bei 28,5 U/l, ohne DSA bei 26 U/l.

Bei Betrachtung der mittleren Ränge im MWU-Test bestätigte sich diese Beobachtung (154,6 vs. 127,5; $p=0,009$).

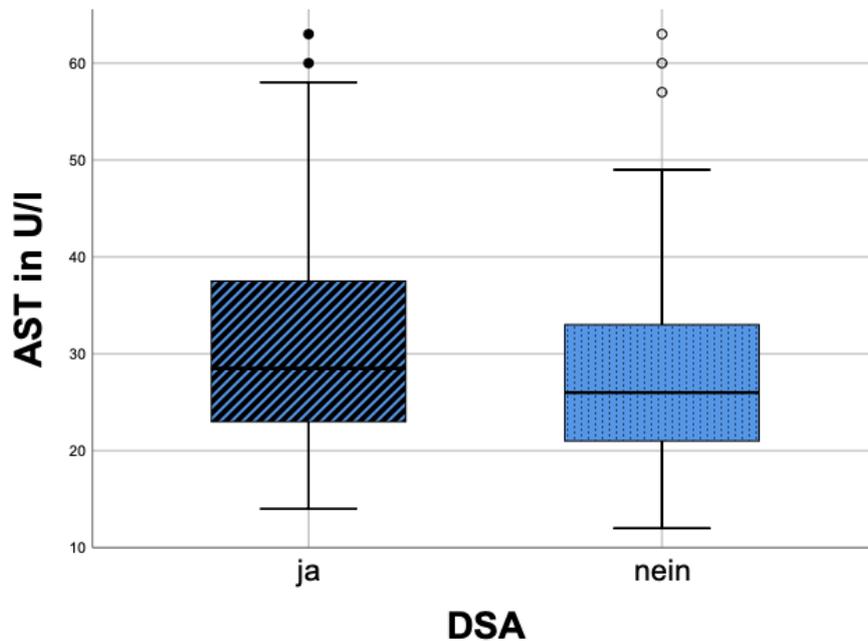


Abbildung 9: AST in U/l zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom DSA Vorkommen (Mediane: 28,5 U/l vs. 26 U/l), (MWU: 154,6 vs. 127,5; $p=0,009$)

3.7.2.2 Cholestaseparameter

Eine Auswertung der Cholestaseparameter in Abhängigkeit von den DSA der Patient*innen wurde durchgeführt. Bei 270 der Patient*innen lagen Daten zu den DSA sowie zusätzlich zu den Parametern AP und GGT vor. Bei 268 Patient*innen lagen Daten zum Gesamt-Bilirubin vor.

Die AP dieser Kohorte lag im Mittel bei 102 U/l (65; SD) mit einem Median von 83 (31-467; min-max).

Weder bei den Boxplots (Mediane: 82 U/l vs. 83 U/l) noch im MWU-Test ließ sich ein signifikanter Unterschied des AP-Wertes zwischen Patient*innen mit und ohne DSA feststellen (136 vs. 135,3; $p=0,943$) (Abbildung 10).

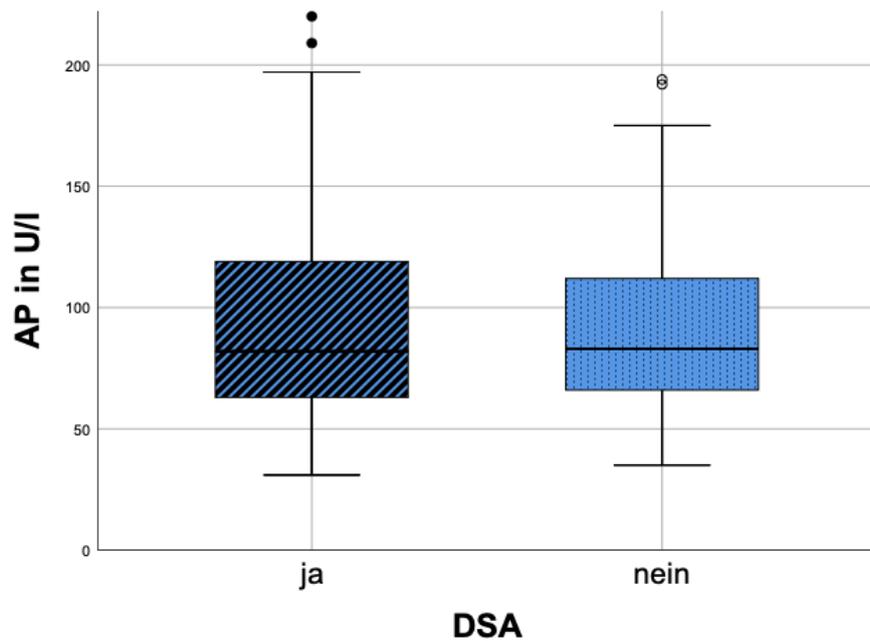


Abbildung 10: AP in U/l zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom DSA Vorkommen (Mediane: 82 U/l vs. 83 U/l), (MWU: 136 vs. 135,3; $p=0,943$)

Der Mittelwert der GGT aller Patient*innen, die auf DSA untersucht wurden, lag bei 57,4 U/l (86; SD), der Median bei 29 U/l (8-903; min-max).

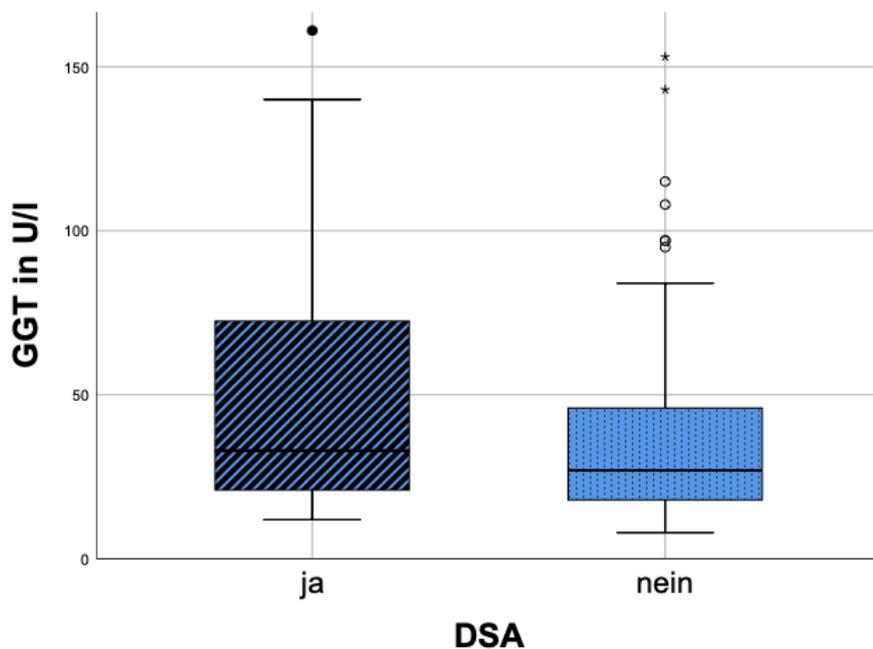


Abbildung 11: GGT in U/l zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom DSA Vorkommen (Mediane: 33 U/l vs. 27 U/l), (MWU: 155,4 vs. 127,1; $p=0,007$)

Bei Betrachtung der visuellen Darstellung der GGT für Patient*innen mit und ohne DSA fielen relevante Unterschiede zwischen beiden Boxplots auf (Abbildung 11). Der Median der GGT in der Gruppe der Patient*innen mit DSA lag bei 33 U/l, dagegen lag die GGT bei den Patient*innen ohne DSA im Median bei 27 U/l. Durch den MWU-Test bestätigte sich ein signifikanter Verteilungsunterschied (155,4 vs. 127,1; $p=0,007$). Die Patient*innen unserer Kohorte mit DSA wiesen somit nachweislich höhere GGT-Werte auf.

Die Auswertung des Gesamt-Bilirubins für Patient*innen mit und ohne DSA zeigte für beide Gruppierungen einen Mittelwert von 0,7 mg/dl (1,3; SD) und einen Median von 0,5 mg/dl (0,2-20,4; min-max). Sowohl bei den Boxplots (Mediane: 0,7 vs. 0,5; Abbildung 12) als auch im MWU-Test (167 vs. 120,7; $p<0,001$) fallen signifikant höhere Bilirubin-Werte bei Vorkommen von DSA auf.

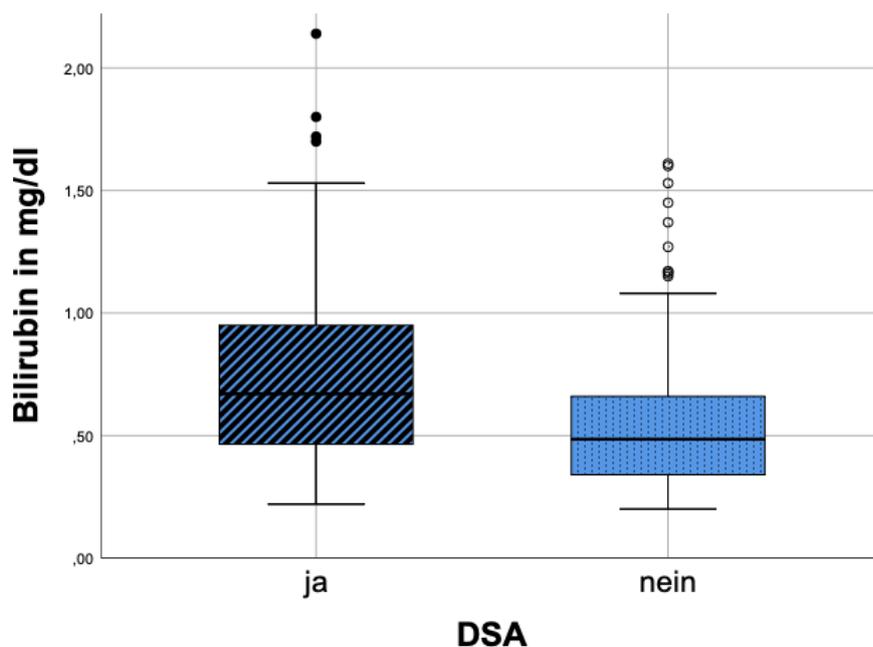


Abbildung 12: Bilirubin in mg/dl zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom DSA Vorkommen (Mediane: 0,7 mg/dl vs. 0,5 mg/dl), (MWU: 167 vs. 120,7; $p<0,001$)

3.7.2.3 Kreatinin und INR

Die Kreatininwerte lagen bei 270 der Patient*innen, die auf DSA untersucht wurden, vor. Eine Abnahme der INR erfolgte von 266 Patient*innen. Analog zu der Auswertung der Auswirkungen der HLA-Ak wurden Patient*innen ab einem Kreatinin über 4 mg/dl ausgeschlossen. Entsprechend konnten wir das Kreatinin von 260 Patient*innen ins

Verhältnis zum Vorkommen von DSA setzen. In dieser Kohorte lag der Mittelwert des Kreatinins bei 1,2 mg/dl (0,4; SD) mit einem Median von 1,1 mg/dl (0,5-3,3; min-max). In den Boxplots zeigte sich eine Tendenz zu höheren Kreatininwerten in der Patient*innengruppe ohne DSA (Mediane: 1,0 vs. 1,1; Abbildung 13). Dafür ergaben sich allerdings keine signifikanten Ergebnisse im MWU-Test (122,1 vs. 134,2; $p=0,231$).

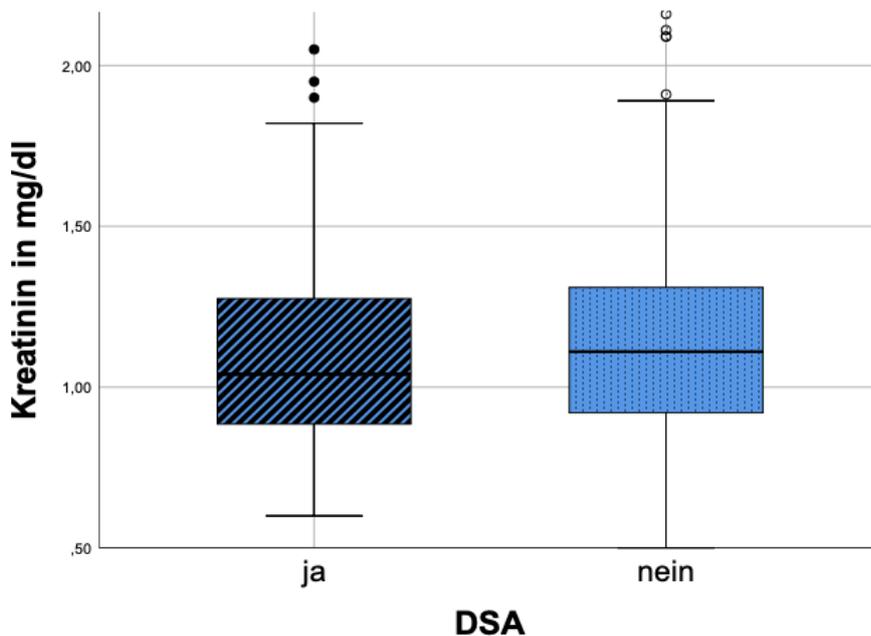


Abbildung 13: Kreatinin in mg/dl zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom DSA Vorkommen (Mediane: 1,0 mg/dl vs. 1,1 mg/dl), (MWU: 122,1 vs. 134,2; $p=0,231$)

Die INR der Patient*innen, die auf das Vorkommen von DSA untersucht wurden, lag im Mittel bei 1,1 (0,2; SD) mit einem Median von 1,0 (0,9-2,7; min-max).

In den Boxplots zeigte sich eine leichte Verschiebung der INR zu höheren Werten bei Patient*innen mit DSA (Mediane: 1,03 vs. 1,01; Abbildung 14). Diese Beobachtung stellte sich als knapp nicht signifikant im MWU-Test heraus (147,5 vs. 127,6; $p=0,053$).

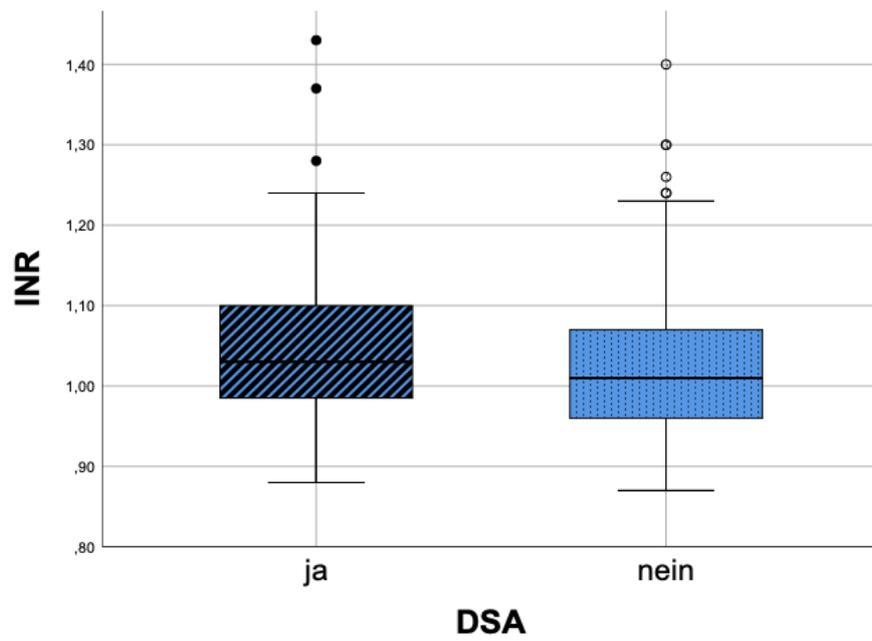


Abbildung 14: INR zum Untersuchungszeitpunkt in Abhängigkeit vom DSA Vorkommen (Mediane: 1,03 vs. 1,01), (MWU: 147,5 vs. 127,6; $p=0,053$)

4. Diskussion

4.1 Einordnung der Ergebnisse

Die vorliegende retrospektive Querschnittsstudie präsentiert eine Auswertung klinischer Parameter, die aus einem heterogenen lebertransplantierten Patient*innenkollektiv erhoben wurden. Eine Untersuchung von Einflüssen durch das Vorkommen von HLA-Ak und DSA lag im Fokus dieser Studie und wurde mit Hilfe von histopathologischen Merkmalen ausgewertet.

Die Heterogenität der Kohorte kommt unter anderem auf Grundlage der differierenden Transplantationszeitpunkte zustande, die zwischen 1988 und 2017 liegen und sich somit über 29 Jahre verteilen. Innerhalb dieses prolongierten Zeitraums kam es mit dem Fortschritt der Transplantationsmedizin auch zu einem Wandel der Therapie- und Versorgungsleitlinien (81).

Unser Ziel war die Untersuchung des Stellenwerts der Antikörperkontrolle bei lebertransplantierten Patient*innen, um Empfehlungen abzuleiten oder Gründe für die Notwendigkeit einer Antikörperuntersuchung zu spezifizieren.

Unsere Ergebnisse belegen, dass HLA-Ak und DSA zu einem signifikant höheren Grad einer Inflammation im Lebertransplantat führen. Eine von uns durchgeführte logistische Regressionsanalyse bestätigte weiterhin eine signifikante Abhängigkeit zwischen dem histopathologischen Merkmal der Entzündungsaktivität und einem DSA-Befund bzw. eine knapp nicht signifikante Abhängigkeit zu den HLA-Ak.

Diese Beobachtungen sind konsistent zu Beobachtungen in pädiatrischen Kollektiven - Feng et al. konnte in einer Querschnittsstudie einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von DSA der Klasse II und einer T-Zell Infiltration der Leber nachweisen. Sie schlussfolgerte, dass auf diese Weise eine Alloreaktivität mit einer subklinisch ablaufenden chronischen Schädigung der transplantierten Leber im Langzeitverlauf assoziiert sei (82). Während Varma et al. mit Hilfe von Protokollbiopsien einen Einfluss von Klasse II DSA auf eine portale Inflammation der Leber zeigen konnte (83). Beide Auswertungen zeigen einen Einfluss von DSA auf inflammatorisch bedingte Veränderungen der Leber, die größtenteils subklinisch abliefen. Alle eingeschlossenen Patient*innen waren Kinder in einem klinisch stabilen Zustand, die über den Langzeitverlauf auf pathologische Veränderungen kontrolliert werden sollten. Analog zu unseren Untersuchungen wurden Protokollbiopsien durchgeführt, wobei unser Patient*innenkollektiv sowohl Kurzzeit- als auch Langzeittransplantierte miteinschloss.

Die Ergebnisse von Varma und Feng et al. ließen sich allerdings dennoch in unserer Studie reproduzieren.

Von besonderem Interesse war eine überraschende Assoziation zwischen Antikörpern im Serum (HLA-Ak, DSA) und einer geringer ausgeprägten Leberzellverfettung (Stadium 0-I), als im Vergleichskollektiv ohne Antikörper. Nachweisbar war ein signifikanter Zusammenhang, der in unserer Auswertung entgegengesetzt zu dem Einfluss der Antikörper auf Inflammationsvorgänge der Leber ablief.

Die Antikörper (HLA-Ak, DSA) im Serum der Patient*innen zeigten parallel dazu eine Assoziation mit einer erhöhten Inflammationsreaktion im untersuchten Lebergewebe. Diese Beobachtung gibt uns einen Hinweis auf eine konstante Hochregulation des Immunsystems der Patient*innen bei Vorliegen der entsprechenden Antikörper.

Grundlegend muss im Rahmen von Infektionen die akute von der chronischen Inflammation unterschieden werden: Als akut wird eine Entzündung bezeichnet, welche durch eine Anpassung des menschlichen Körpers auf eine akute Stresssituation innerhalb eines kurzen Zeitraums gekennzeichnet ist. Chronische Inflammationen laufen in der Regel steril, also nicht infektiös und unterschwellig über einen prolongierten Zeitraum ab (84).

Die bei uns auffällig gewordene Inflammation des Lebergewebes, assoziiert zu dem Antikörpervorkommen im Serum, ist am ehesten als chronische und konstante Reaktion einzuordnen. Dabei führt der dauerhaft ablaufende Inflammationsreiz zu einer Entwicklung der initial sinnvollen Adaptationsprozesse des menschlichen Körpers zu einem evolutionären Nachteil. Auf Grundlage einer ursprünglich zur Bekämpfung akuter lebensbedrohlicher Vorgänge, wie unter anderem Infektionen oder Wunden, gedachten Adaptation wird über einen langen Zeitraum eine Maladaptation. Die langfristige Hochregulation des Immunsystems nimmt Energie in Anspruch, die anderen Vorgängen des Körpers entzogen wird und führt so unter anderem zu einer entzündungsinduzierten Anorexie und der Fehlverteilung von Nährstoffen im Körper (85). Dieser Prozess gibt einen Erklärungsansatz für die durch uns beobachtete simultan zur erhöhten Inflammationstätigkeit vorliegende geringere Leberzellverfettung bei Antikörpervorkommen. Die negative Energiebilanz des Körpers zugunsten des Immunsystems bei chronischer Immunreaktion und der Zusammenhang zur Alloreaktivität liefert damit einen möglichen Ansatz für zukünftige Untersuchungen (85). Mit zunehmendem Alter nimmt die Wahrscheinlichkeit zur Alloreaktivität ab, was am ehesten auf ein stärker reaktives Immunsystem bei jüngeren Patient*innen

zurückzuführen ist (86,87). Dieser Sachverhalt spricht dafür, dass die DSA-Bildung nach Organtransplantation Ausdruck einer eigentlich adäquaten Aktivierung des Immunsystems des*der Empfänger*in ist.

Ein weiterer möglicher Ansatz für die gleichzeitig bei Vorkommen von DSA beobachtete verstärkte Inflammation und geringere Steatose der Leber – eine immunsuppressive Wirkung von Fett. Fettzellen produzieren proinflammatorische Zytokine und sorgen für konstant ablaufende, geringgradige Entzündungsprozesse bei Menschen mit Adipositas (88). Trotz dieser dauerhaft erhöhten Immunreaktion haben Menschen mit Adipositas eine eingeschränkte Immunantwort auf Pathogene. Unter anderem liegt das an einer eingeschränkten Funktion der T-Zellen, da das krankhaft erhöhte Körperfett zu einer Einschränkung der Thymopoese und Differenzierung von T-Zellen führt (89). Mit dieser Veränderung der Immunantwort geht zum Beispiel eine geringere Effektivität von Impfstoffen bei adipösen Menschen einher (90). Ebenso ein erhöhtes Risiko der Tumorentstehung bei Fettleibigkeit hängt mit dem Einfluss der Fettzellen auf das Immunsystem zusammen (91). Welchen Einfluss das Körperfett auf die Alloreaktivität im Rahmen einer Transplantation hat, ist bis dato nicht endgültig geklärt (92). Es bedarf speziell in Bezug auf die Steatose der Leber weiterer Untersuchungen, um den Einfluss der Verfettung auf die Immunantwort zu eruieren.

Darüber hinaus betrachteten wir auch den Einfluss von alloreaktiven Antikörpern auf den Zustand einer transplantierten Leber unter anderem im Zusammenhang mit der Einnahme und Art der immunsuppressiven Medikation der Patient*innen. Ein signifikant protektiver Effekt durch die Einnahme von mTORi auf das Vorkommen von HLA-Ak und DSA konnte durch uns nachgewiesen werden. Simultan zeigte sich ein geringeres Vorkommen von HLA-Ak bei Patient*innen mit Zustand nach HCC. In der Gruppe der Patient*innen mit HCC als Transplantationsindikation, nahmen 23,2% mTORi als zusätzliches oder alleiniges Immunsuppressivum ein. Der Einsatz der mTORi innerhalb dieser Subgruppe basiert unter anderem auf einem antikanzerogenen Effekt. Schnitzbauer et al. wies 2020 nach, dass speziell jüngere Patient*innen mit aktivem HCC und respektive hohen AFP-Werten von einer Einnahme von Sirolimus (mTORi) über einen Zeitraum von mehr als drei Monaten profitieren. Ein signifikant späteres Rezidiv der Tumorerkrankung sowie ein verlängertes Überleben im Falle eines Rezidivs konnte nachgewiesen werden (93). Im Gegensatz dazu zeigte sich bei Einnahme von CNI ein höheres HCC-Rezidiv-Risiko im Verlauf nach LT (94,95). Dieser prognostische Vorteil der mTORi zu den CNI konnte im Mäusemodell durch eine Hemmung der

Tumorzellproliferation und Angiogenese bewiesen werden, ohne dabei eine Verringerung des immunsuppressiven Effekts nach sich zu ziehen (96).

Die Assoziation zwischen einem geringeren Risiko an alloreaktiven Antikörpern im Serum der Patient*innen und einer vorherigen HCC-Erkrankung reiht sich ein zu den Beobachtungen von Willuweit et al. aus dem Jahr 2017, die bereits eine simultane Runterregulation bzw. Alteration immunologischer Prozesse bei Entstehung und Vorliegen eines HCC der Leber und einer damit im Zusammenhang stehenden geringeren Bildung von DSA vermutete. Ebenso beobachtete sie ein niedrigeres DSA-Vorkommen bei Patient*innen, die mTORi einnahmen, wobei ein Zusammenhang zwischen den beiden Variablen ausgeschlossen wurde (97). Der protektive Einfluss der mTORi auf die Entwicklung von DSA im Verlauf konnte auch im Rahmen von Nierentransplantationen reproduziert werden (98). Entsprechende Beobachtungen wurden durch Rigol et al. im Mäusemodell nach Transplantation einer Femoralarterie und bei Einnahme von Sirolimus abgebildet. Im Rahmen dessen wurden weniger Makrophagen im Fremdgewebe nachgewiesen, die eine primäre Rolle für humorale Rejektionen spielen (99). Die genauen Mechanismen, die diesem protektiven Effekt zu Grunde liegen, sind weiterhin unbekannt und bedürfen weiterer Untersuchungen.

Subklinische T-Zell vermittelte Rejektionen (SubTCMR) sind eine Form der histologischen Transplantatschädigung ohne ein laborchemisches Äquivalent, wie eine Transaminasenerhöhung im Serum der betroffenen Patient*innen (100). Eine Art der Abstoßung, die in der Regel zufällig bei Routinebiopsien auffällig wird. Bartlett et al. beschrieb 2002 seine Vermutung, dass diese Pathologie am Transplantat ein Ausdruck einer prinzipiell förderlichen Immunregulation darstellen könnte. Er schlussfolgerte, dass bis zum Eintritt einer Transaminasenerhöhung auf eine Erhöhung der immunsuppressiven Medikation verzichtet werden könnte, ohne relevante Einbußen des Transplantatüberlebens nach sich zu ziehen (101). Im Rahmen von Nierentransplantationen konnte wiederum eine Verschlechterung der Prognose der SubTCMR bei gleichzeitigem Vorliegen von DSA sowie eine Glomerulopathie des Transplantates bei diesen Patient*innen beobachtet werden (102). Höfer et al. machte 2020 in einem kleinen Kollektiv eine ähnliche Beobachtung bei Patient*innen nach LT. Es zeigte sich ein höherer Grad an Transplantatschädigung, wenn zusätzlich zu einer SubTCMR DSA im Serum vorlagen. Das lieferte einen Hinweis auf einen progressiven Schädigungsmechanismus und auf ein eventuell höheres Potenzial zum Übergang in eine chronische Abstoßung im Rahmen dieser Konstellation (103). Beobachtungen zu

den Langzeitfolgen fehlen bislang. Die Ergebnisse liefern allerdings einen Anhalt dafür, dass die engmaschige Durchführung von Routinebiopsien nach LT besonders bei Nachweis von DSA eine frühzeitige Detektion von Pathologien und eventuellen Abstoßungen im Transplantat ermöglichen könnte. Saunders et al. konnte in diesem Zusammenhang zeigen, dass durch eine Kombination von Protokollbiopsien und der regelmäßigen Kontrolle von DSA und klinischen Parametern bei einigen Patient*innen eine sichere Reduktion an immunsuppressiver Medikation möglich wird. Eine Verbesserung des Langzeitüberleben durch dieses risikoadaptierte Vorgehen kann unter anderem durch eine Protektion der Nierenfunktion ohne gleichzeitig erhöhtes Rejektionsrisiko möglich werden (104).

Die Studienlage zum Einfluss von DSA nach LT wächst stetig. Eine im Jahr 2020 durchgeführte Meta-Analyse von Beyzaei et al. untersuchte 15 Studien auf eine Assoziation zwischen de-novo auftretenden DSA und dem Outcome nach LT im Langzeitverlauf. Es fand sich im Vergleich aller Studien im Durchschnitt ein 6,43-mal höheres Risiko eines Transplantatverlustes in den DSA positiven Kohorten. Daraus wurde die Handlungsempfehlung abgeleitet den Nachweis von de-novo DSA als prognostischen Biomarker zur Verlaufsbeobachtung nach LT zu etablieren (105). Eine endgültige Leitlinie zum Umgang mit dem Befund der Alloreaktivität bei LT besteht allerdings bis dato nicht. Fachkreise fordern im Angesicht der Studienlage standardisierte Screeningverfahren, um so Risikopatient*innen zu erkennen und frühzeitige Pathologien zu behandeln (106). Welche Rolle bei der Pathogenität unterschiedliche Subklassen der DSA (IgG3, C1q-Bindungspotenzial) oder die Höhe des Antikörper- bzw. MFI-Titers spielen, bleibt weiterhin unklar (50). Denn obwohl mittlerweile verschiedene Arbeitsgruppen einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von DSA und einer progressiven Transplantatfibrose und konsekutiv einem geringeren Transplantatüberleben nachweisen konnten, scheint stets ein nicht unwesentlicher Anteil der Patient*innen auch nach DSA-Nachweis kein schlechteres Outcome vorzuweisen (50,70,87,107,108). Der Bedarf an Forschung über die Faktoren, die in dem Zusammenhang mit DSA die größte Rolle spielen, ist also weiterhin hoch (50).

Bei den durch uns durchgeführten Observationen des Einflusses von HLA-Ak und DSA auf histologische Veränderungen im Lebertransplantat, fiel eine signifikant höhere Inflamationsaktivität bei den Patient*innen mit DSA auf. Parallel dazu fand sich eine signifikant geringere Verfettung bzw. Steatose der Leber. Dementsprechend gibt unsere Analyse einen Hinweis auf einen negativen Einfluss der DSA auf das Leberparenchym,

was wie bereits oben beschrieben mit diversen vorherigen Untersuchungen übereinstimmt (43,50). Ein konstant ablaufender Entzündungsprozess ist ein wesentlicher Stimulus für die Entstehung einer Fibrose der Leber. Der Zeitpunkt der Irreversibilität ist bislang nicht bekannt, während die Auswirkungen der Invasion von pro- und antiinflammatorischen Zellen lange subklinisch ablaufen (109). Die konsekutiv entstehende Fibrosierung des Transplantatgewebes kann zur Dysfunktion der transplantierten Leber führen und zur Folge haben, dass eine Re-LT nötig wird (110).

Die HLA-Antigene der Klasse I sind in der Regel auf allen Zellen des menschlichen Körpers vorhanden. Die HLA-Antigene der Klasse II werden z.B. durch Erkrankungen, wie eine aktive virale Hepatitis auf den Zellen des Transplantats (z.B. mikrovaskulär) hochreguliert. Das kann über eine Sensibilisierung der Zellen auch zur Ablagerung von C4d im Endothel führen und im Sinne der Two-Hit-Hypothese zu einer höheren Pathogenität durch DSA (40,42,111). Höfer et al. und viele weitere Autor*innen haben zum Ausschluss dieser Wechselwirkung auf die Inflammationsreaktion im Transplantat Patient*innen mit viraler Genese aus den Studien zur Untersuchung des Einflusses durch DSA ausgeschlossen (103). Da alle durch uns eingeschlossenen Patient*innen mit vorheriger HCV-Genese zuvor eine erfolgreiche antivirale Therapie erhielten, konnten wir diese Ursache der Inflammation ausschließen und nahmen im Rahmen unserer Querschnittsanalyse alle Ätiologien, die zur Transplantation geführt haben, auf. Unter anderem begründeten wir dieses Vorgehen auf den Erkenntnissen von Teegen et al. (2018), die herausfand, dass nach Durchführung einer antiviralen Therapie des HCV eine schnelle und komplette Rückbildung der Inflammationsreaktion der Leber vorliegen würde (112).

Eine Analyse der dokumentierten Gallengangsveränderungen, speziell der ITBL, wurde durchgeführt, obstruktionsbedingte Ursachen ausgeschlossen.

Schon 1993 konnte durch Ayres et al. gezeigt werden, dass nach LT vermehrt HLA Klasse II auf den Zellen des biliären Epithels exprimiert wird (113). Möglicher Grund für diese immunologische Reaktion des Gallengangsepithels ist die Ischämiezeit während des Transplantationsvorgangs, welche, durch die Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine und folglich die Invasion von Entzündungszellen, zu einer Hochregulation der Antigene führte (113,114). Daraufhin wurde von Takaya et al. 1999 ein Einfluss humoraler Mechanismen auf Gallengangsveränderungen an der transplantierten Leber nachgewiesen. Auch wenn sich in dieser Arbeit primär auf einen positiven Crossmatch unter Verwendung von T-Lymphozyten des*der Spender*in fokussiert wurde, gaben

diese Ergebnisse einen Hinweis auf einen Zusammenhang zwischen humoraler Alloreaktivität und biliären Pathologien (115). Weitere Studien legten den Verdacht der signifikant höheren Rate an Gallengangspathologien bei Nachweis von DSA im lebertransplantierten Patient*innenkollektiv nahe und zeigten vermehrt vorkommende chronisch-duktopenische Abstoßungsreaktionen sowie anastomotische Gallengangsstrikturen bei spenderspezifischem Antikörper-Nachweis (54,70,116).

Bei Den Dulk et al. zeigte sich hingegen keine Assoziation zwischen präformierten oder de-novo DSA mit der Entwicklung einer nicht-anastomotischen Gallengangsstenose (NAS). Sie stellte jedoch fest, dass sowohl die NAS als auch die de-novo entstandenen Antikörper unabhängig voneinander mit einem negativen Einfluss auf das Transplantatüberleben einhergehen (117).

In unserer Kohorte ergab sich keine signifikante Abhängigkeit der Gallengangskomplikationen von HLA-Ak oder DSA, lediglich eine Tendenz ließ sich erkennen. Es besteht weiterer Forschungsbedarf auf diesem Feld.

Die von uns beobachteten negativen histologischen Einflüsse des Antikörperstatus auf das Transplantat spiegelten sich zusätzlich in der Laborchemie wider. Die Auswirkungen der Präsenz der HLA-Ak bestätigten sich durch eine Erhöhung der Bilirubinwerte im Serum. Bei Vorkommen von DSA konnten höhere Werte für ALT, AST, GGT und Bilirubin festgestellt werden. Laborchemische Veränderungen in Assoziation zu den DSA fielen auch Saelens et al. 2021 bei pädiatrischen Patient*innen nach LT auf, die sich auf eine Erhöhung des Bilirubins und GGT bei zirkulierenden DSA bezogen (118). Die Auswertungen von Barreto et al. wiesen allerdings keinen Einfluss der DSA auf Transaminasen und Bilirubin im Serum nach (119).

Aus unseren Ergebnissen kann man einen klinisch auffälligen alloreaktiven Einfluss auf eine Leberzell- und Gallengangsschädigung ziehen.

4.2 Fazit, Limitationen und Ausblick

Die Intention dieser Arbeit war es zu erörtern, welchen Einfluss die DSA auf das Lebertransplantat ausüben.

In unserer Auswertung konnten wir einen Zusammenhang zwischen einer chronischen Entzündungsreaktion im Lebergewebe und zirkulierenden DSA nachweisen. Auch wenn diese Reaktion ohne die Entwicklung einer Fibrose in der histologischen Untersuchung einherging, bietet diese Erkenntnis einen Ansatz für weiterführende Forschung.

Grundlage dieser Forschung sollte die Untersuchung des Einflusses von humoralen Mechanismen auf den Zustand der Leber nach LT sein.

Welche Mechanismen konkret Einfluss auf ein schlechteres Outcome nach LT haben und ob diese letztendlich zum Transplantatversagen und zur geringeren Langzeitüberlebensrate der Patient*innen in diesem Zusammenhang führen können, muss durch weitere Arbeiten beantwortet werden. Diese sollten ein größeres Kollektiv beobachten und dabei regelmäßige Protokollbiopsien durchführen, um so systematisch auf histologische Veränderungen zu prüfen. Langfristig sollte das Ziel sein, eine risikoadaptierte Vorgehensweise bei speziell gefährdeten Patient*innen einzuführen. Zum Beispiel auf Basis von immunhistochemischen Blutuntersuchungen auf Antikörper, um so frühzeitige Veränderungen zu detektieren und damit verbundene Assoziationen zu observieren.

Die DSA könnten in diesem Zusammenhang einen Biomarker zur Identifizierung von Risikopatient*innen darstellen. Sie können eine Möglichkeit bieten durch konsequente Routinebiopsien Pathologien frühzeitig aufzudecken und entsprechend zu therapieren. Das Langzeitüberleben der Empfänger*innen nach LT könnte möglicherweise verbessert werden.

Wir konnten in dieser Arbeit zeigen, dass bei Nachweis von zirkulierenden DSA im Blut der Patient*innen nach LT eine vermehrte Inflammationstätigkeit im Transplantat vorlag. Gleichzeitig wiesen wir divergent dazu eine geringere Verfettung in der Leber bei Antikörpervorkommen nach. Dadurch gelingt uns eine Ergänzung der derzeit zahlreich aufgestellten Hypothesen um die Frage nach den histologischen Auswirkungen von einer Alloreaktivität der Empfänger*innen auf eine transplantierte Leber.

Wir wiesen weiterhin einen protektiven Effekt durch eine virale sowie maligne Grunderkrankung als Transplantationsindikation nach. Außerdem konnten wir bei Einsatz von mTORi als Immunsuppressivum eine signifikant geringere Rate an DSA im Serum der Patient*innen bestimmen.

Diese Beobachtungen bedürfen weiterer Studien und zeigen uns die Komplexität der Ursache und Wirkung der Antikörper.

Eine Limitation unserer Studie besteht in einer fehlenden Differenzierung zwischen präformierten und de-novo Antikörpern. Im Sinne unseres Fokus auf die Studie als Querschnittsanalyse, verzichteten wir weiterhin auf das Einbeziehen der MFI-Werte, um so unsere Untersuchung im Rahmen zu halten. Zukünftige Studien, auch durch unsere Arbeitsgruppe, sollten an dieser Quantifizierung der Antikörper anknüpfen und somit

einen spezifischeren Blick auf die Bedeutung des Antikörpervorkommens liefern. Wir nutzten im Zuge des MFI-Wertes einen cut-off Wert von > 1000 zur Festlegung eines positiven DSA-Befundes. Dieser wird größtenteils als Standard auch in anderen Zentren verwendet und ergibt sich aus einer internen Validierung mit Positiv- und Negativseren. Andere Arbeitsgruppen zeigten erst signifikant negative Einflüsse durch DSA auf das Outcome des Transplantates ab einem MFI-Titer von > 5000 , weshalb die Bedeutung dieses Punktes spezifisch erörtert werden sollte (120).

Durch den Aufbau unserer Analyse als Querschnittsstudie wurden Patient*innen an unterschiedlichen Zeitpunkten nach Transplantation eingeschlossen. Die dadurch entstandene Heterogenität des Kollektivs bedingt eine geringere Vergleichbarkeit der Patient*innen untereinander bspw. durch ein unterschiedliches Immunsuppressionsregime bzw. durch verschieden lange Abstände zwischen Transplantations- und Observationszeitpunkt. Wiederum bietet ein heterogenes Patient*innenkollektiv einen Querschnitt durch die Gesellschaft als Real World Szenario. Zukünftige Analysen sollten sich auch auf Therapieansätze im Falle einer durch DSA provozierten Inflammation bzw. Transplantatdysfunktion fokussieren. Es sollte untersucht werden, inwiefern angepasste Immunsuppressionsregime der richtige Ansatz bei Nachweis von Antikörpern mit Hinblick auf Verlängerung des Langzeitüberlebens sind. Mit dem Ausblick auf eine alternde Transplantatbevölkerung durch Risikominimierung und Entwicklung verbesserter Therapie- und Versorgungsleitlinien ist es das langfristige Ziel, die Bedeutung von alloreaktiven Antikörpern richtig einzuordnen und entsprechende Anpassungen der Immunsuppression bzw. Beobachtungsintervalle abzuleiten.

Literaturverzeichnis

1. Starzl TE, Putnam CW. Experience in Hepatic Transplantation [Internet]. Philadelphia, PA: WB Saunders Company; 1969 [zitiert 19. April 2021]. Verfügbar unter: <https://d-scholarship.pitt.edu/3583/>
2. Samuel D, Coilly A. Management of patients with liver diseases on the waiting list for transplantation: a major impact to the success of liver transplantation. BMC Med [Internet]. 1. August 2018 [zitiert 19. April 2021];16. Verfügbar unter: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6069832/>
3. Putnam CW, Halgrimson CG, Koep L, Starzl TE. Progress in liver transplantation. World J Surg. März 1977;2(1):165–75.
4. Ärzteblatt DÄG Redaktion Deutsches. Irreversibles Leberversagen – Transplantation als Behandlungsoption [Internet]. Deutsches Ärzteblatt. 2013 [zitiert 19. Januar 2021]. Verfügbar unter: <https://www.aerzteblatt.de/archiv/135065/Irreversibles-Leberversagen-Transplantation-als-Behandlungsoption>
5. Wong RJ, Chou C, Bonham CA, Concepcion W, Esquivel CO, Ahmed A. Improved survival outcomes in patients with non-alcoholic steatohepatitis and alcoholic liver disease following liver transplantation: an analysis of 2002-2012 United Network for Organ Sharing data. Clin Transplant. Juni 2014;28(6):713–21.
6. Jain A, Reyes J, Kashyap R, Dodson SF, Demetris AJ, Ruppert K, Abu-Elmagd K, Marsh W, Madariaga J, Mazariegos G, Geller D, Bonham CA, Gayowski T, Cacciarelli T, Fontes P, Starzl TE, Fung JJ. Long-term survival after liver transplantation in 4,000 consecutive patients at a single center. Ann Surg. Oktober 2000;232(4):490–500.
7. Suhling H, Gottlieb J, Bara C, Taubert R, Jäckel E, Schiffer M, Bräsen JH. Chronische Abstoßung. Internist. 1. Januar 2016;57(1):25–37.
8. Watt KDS, Pedersen RA, Kremers WK, Heimbach JK, Charlton MR. Evolution of causes and risk factors for mortality post-liver transplant: results of the NIDDK long-term follow-up study. Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg. Juni 2010;10(6):1420–7.
9. Neuberger J. Follow-up of liver transplant recipients. Best Pract Res Clin Gastroenterol. August 2020;46–47:101682.
10. Banff Working Group, Demetris AJ, Adeyi O, Bellamy COC, Clouston A, Charlotte F, Czaja A, Daskal I, El-Monayeri MS, Fontes P, Fung J, Gridelli B, Guido M, Haga H, Hart J, Honsova E, Hubscher S, Itoh T, Jhala N, Jungmann P, Khetry U, Lassman C, Ligato S, Lunz JG, Marcos A, Minervini MI, Mölne J, Nalesnik M, Nasser I, Neil D, Ochoa E, Pappo O, Randhawa P, Reinholt FP, Ruiz P, Sebahg M, Spada M, Sonzogni A, Tsamandas AC, Wernerson A, Wu T, Yilmaz F. Liver biopsy interpretation for causes of late liver allograft dysfunction. Hepatol Baltim Md. August 2006;44(2):489–501.
11. Batts KP. Acute and chronic hepatic allograft rejection: pathology and classification. Liver Transplant Surg Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc. Juli 1999;5(4 Suppl 1):S21-29.
12. Neumann U, Langrehr J, Neuhaus P. Chronic Rejection after Human Liver Transplantation. Graft. 1. März 2002;5:102–7.
13. Ossami Saidy RR, Postel MP, Pflüger MJ, Schoening W, Öllinger R, Gül-Klein S, Schmelzle M, Tacke F, Pratschke J, Eurich D. Minimization of Immunosuppressive Therapy Is Associated with Improved Survival of Liver Transplant Patients with Recurrent Hepatocellular Carcinoma. Cancers. Januar 2021;13(7):1617.
14. Gül-Klein S, Kästner A, Haber PK, Krenzien F, Wabitsch S, Krannich A, Andreou A, Eurich D, Tacke F, Horst D, Pratschke J, Schmelzle M. Recurrence of Hepatocellular Carcinoma After Liver Transplantation is Associated with Episodes of Acute Rejections. J Hepatocell Carcinoma. 2021;8:133–43.

15. Posch P, Hurley C. Histocompatibility. In: Blood and Bone Marrow Pathology [Internet]. Elsevier; 2011 [zitiert 27. Januar 2021]. S. 641–76. Verfügbar unter: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780702031472000390>
16. Stöcker W. HLA-Allele. In: Gressner AM, Arndt T, Herausgeber. Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer; 2019 [zitiert 22. Januar 2021]. S. 1125–6. (Springer Reference Medizin). Verfügbar unter: https://doi.org/10.1007/978-3-662-48986-4_1459
17. Humanes Leukozyten-Antigen (HLA) -System - Immunologie, Allergien [Internet]. MSD Manual Profi-Ausgabe. [zitiert 22. Januar 2021]. Verfügbar unter: <https://www.msdmanuals.com/de-de/profi/immunologie,-allergien/biologie-des-immunsystems/humanes-leukozyten-antigen-system>
18. Eckstein R, Zimmermann R. 10 - Biologische Bedeutung des HLA-Systems. In: Eckstein R, Zimmermann R, Herausgeber. Immunhämatologie und Klinische Transfusionsmedizin (Siebte Ausgabe) [Internet]. Munich: Urban & Fischer; 2016 [zitiert 22. Januar 2021]. S. 65–9. Verfügbar unter: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9783437316814000106>
19. Iwaki Y, Terasaki PI. Sensitization effect. *Clin Transpl.* 1986;257–65.
20. Roelen DL, van Bree J, Witvliet MD, Habraken I, van Beelen E, van't Sant PH, de Waal LP, van Rood JJ, Claas FH. IgG antibodies against an HLA antigen are associated with activated cytotoxic T cells against this antigen, IgM are not. *Transplantation.* 15. Mai 1994;57(9):1388–92.
21. Antibody-Mediated Renal Allograft Rejection: Diagnosis and Pathogenesis. *J Am Soc Nephrol.* 1. April 2007;18(4):1046–56.
22. Witt CA, Gaut JP, Yusen RD, Byers DE, Iuppa JA, Bennett Bain K, Alexander Patterson G, Mohanakumar T, Trulock EP, Hachem RR. Acute antibody-mediated rejection after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant Off Publ Int Soc Heart Transplant.* Oktober 2013;32(10):1034–40.
23. de Kort H, Munivenkatappa RB, Berger SP, Eikmans M, van der Wal A, de Koning EJ, van Kooten C, de Heer E, Barth RN, Bruijn JA, Philosophe B, Drachenberg CB, Bajema IM. Pancreas allograft biopsies with positive c4d staining and anti-donor antibodies related to worse outcome for patients. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* Juli 2010;10(7):1660–7.
24. O'Leary JG, Kaneku H, Jennings L, Susskind BM, Terasaki PI, Klintmalm GB. Donor-specific alloantibodies are associated with fibrosis progression after liver transplantation in hepatitis C virus–infected patients. *Liver Transpl.* 2014;20(6):655–63.
25. Tait BD, Süsal C, Gebel HM, Nickerson PW, Zachary AA, Claas FHJ, Reed EF, Bray RA, Campbell P, Chapman JR, Coates PT, Colvin RB, Cozzi E, Doxiadis IIN, Fuggle SV, Gill J, Glotz D, Lachmann N, Mohanakumar T, Suciu-Foca N, Sumitran-Holgersson S, Tanabe K, Taylor CJ, Tyan DB, Webster A, Zeevi A, Opelz G. Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and non-HLA antibodies in transplantation. *Transplantation.* 15. Januar 2013;95(1):19–47.
26. Colvin RB. Dimensions of Antibody-Mediated Rejection. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* Juli 2010;10(7):1509–10.
27. Tan CD, Baldwin WM, Rodriguez ER. Update on cardiac transplantation pathology. *Arch Pathol Lab Med.* August 2007;131(8):1169–91.
28. Castillo-Rama M, Castro MJ, Bernardo I, Meneu-Diaz JC, Elola-Olaso AM, Calleja-Antolin SM, Romo E, Morales P, Moreno E, Paz-Artal E. Preformed antibodies detected by cytotoxic assay or multibead array decrease liver allograft survival: Role of human leukocyte antigen compatibility. *Liver Transpl.* 2008;14(4):554–62.
29. Neumann UP, Guckelberger O, Langrehr JM, Lang M, Schmitz V, Theruvath T, Schonemann C, Menzel S, Klupp J, Neuhaus P. Impact of human leukocyte antigen matching in liver transplantation. *Transplantation.* Januar 2003;75(1):132–7.

30. Navarro V, Herrine S, Katopes C, Colombe B, Spain CV. The effect of HLA class I (A and B) and class II (DR) compatibility on liver transplantation outcomes: An analysis of the OPTN database. *Liver Transpl.* 2006;12(4):652–8.
31. Andres GA, Ansell ID, Halgrimson CG, Hsu KC, Porter KA, Starzl TE, Accinni L, Calne RY, Herbertson BM, Penn I, Rendall JM, Williams R. IMMUNOPATHOLOGICAL STUDIES OF ORTHOTOPIC HUMAN LIVER ALLOGRAFTS. *The Lancet.* 5. Februar 1972;299(7745):275–80.
32. Del Bello A, Congy-Jolivet N, Danjoux M, Muscari F, Kamar N. Donor-specific antibodies and liver transplantation. *Hum Immunol.* November 2016;77(11):1063–70.
33. Nakamura K, Murase N, Becich MJ, Furuya T, Todo S, Fung JJ, Starzl TE, Demetris AJ. Liver allograft rejection in sensitized recipients. Observations in a clinically relevant small animal model. *Am J Pathol.* Mai 1993;142(5):1383–91.
34. Demetris AJ, Bellamy COC, Gandhi CR, Prost S, Nakanuma Y, Stolz DB. Functional Immune Anatomy of the Liver-As an Allograft. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* Juni 2016;16(6):1653–80.
35. s. DAVIES HF, Pollard s G, Calne RY. SOLUBLE HLA ANTIGENS IN THE CIRCULATION OF LIVER GRAFT RECIPIENTS. *Transplantation.* März 1989;47(3):524–7.
36. Abu-Elmagd KM, Wu G, Costa G, Lunz J, Martin L, Koritsky DA, Murase N, Irish W, Zeevi A. Preformed and De Novo Donor Specific Antibodies in Visceral Transplantation: Long-Term Outcome With Special Reference to the Liver. *Am J Transplant.* 2012;12(11):3047–60.
37. Demetris AJ, Jaffe R, Tzakis A, Ramsey G, Todo S, Belle S, Esquivel C, Shapiro R, Markus B, Mroczek E. Antibody-mediated rejection of human orthotopic liver allografts. A study of liver transplantation across ABO blood group barriers. *Am J Pathol.* September 1988;132(3):489–502.
38. Demetris AJ, Iwaki Y, Valdivia L, Iwatsuki S, Fung JJ. Immunopathology of Antibodies as Effectors of Orthotopic Liver Allograft Rejection. :9.
39. Starzl TE, Demetris AJ, Todo S, Kang Y, Tzakis A, Duquesnoy R, Makowka L, Banner B, Concepcion W, Porter KA. Evidence for hyperacute rejection of human liver grafts: The case of the canary kidneys. *Clin Transplant.* 1989;3:37–45.
40. Demetris AJ, Zeevi A, O’Leary JG. ABO-compatible Liver Allograft Antibody-mediated Rejection: an update. *Curr Opin Organ Transplant.* Juni 2015;20(3):314–24.
41. Wozniak LJ, Naini BV, Hickey MJ, Bhattacharyya S, Reed EF, Busuttill RW, Farmer DG, Vargas JH, Venick RS, McDiarmid SV. Acute antibody-mediated rejection in ABO-compatible pediatric liver transplant recipients: case series and review of the literature. *Pediatr Transplant.* 2017;21(1):e12791.
42. Demetris AJ, Bellamy C, Hübscher SG, O’Leary J, Randhawa PS, Feng S, Neil D, Colvin RB, McCaughan G, Fung JJ, Del Bello A, Reinholt FP, Haga H, Adeyi O, Czaja AJ, Schiano T, Fiel MI, Smith ML, Sebagh M, Tanigawa RY, Yilmaz F, Alexander G, Baiocchi L, Balasubramanian M, Batal I, Bhan AK, Bucuvalas J, Cerski CTS, Charlotte F, de Vera ME, ElMonayeri M, Fontes P, Furth EE, Gouw ASH, Hafezi-Bakhtiari S, Hart J, Honsova E, Ismail W, Itoh T, Jhala NC, Khettry U, Klintmalm GB, Knechtle S, Koshiha T, Kozlowski T, Lassman CR, Lerut J, Levitsky J, Licini L, Liotta R, Mazariegos G, Minervini MI, Misdraji J, Mohanakumar T, Mölne J, Nasser I, Neuberger J, O’Neil M, Pappo O, Petrovic L, Ruiz P, Sağol Ö, Sanchez Fueyo A, Sasatomi E, Shaked A, Shiller M, Shimizu T, Sis B, Sonzogni A, Stevenson HL, Thung SN, Tisone G, Tsamandas AC, Wernerson A, Wu T, Zeevi A, Zen Y. 2016 Comprehensive Update of the Banff Working Group on Liver Allograft Pathology: Introduction of Antibody-Mediated Rejection. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* Oktober 2016;16(10):2816–35.
43. O’Leary JG, Cai J, Freeman R, Banuelos N, Hart B, Johnson M, Jennings LW, Kaneku H, Terasaki PI, Klintmalm GB, Demetris AJ. Proposed Diagnostic Criteria for Chronic

Antibody-Mediated Rejection in Liver Allografts. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* Februar 2016;16(2):603–14.

44. Stegall MD, Chedid MF, Cornell LD. The role of complement in antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *Nat Rev Nephrol.* November 2012;8(11):670–8.

45. Loupy A, Lefaucheur C, Vernerey D, Prugger C, Duong van Huyen J-P, Mooney N, Suberbielle C, Frémeaux-Bacchi V, Méjean A, Desgrandchamps F, Anglicheau D, Nochy D, Charron D, Empana J-P, Delahousse M, Legendre C, Glotz D, Hill GS, Zeevi A, Jouven X. Complement-binding anti-HLA antibodies and kidney-allograft survival. *N Engl J Med.* 26. September 2013;369(13):1215–26.

46. Collins AM, Jackson KJL. A Temporal Model of Human IgE and IgG Antibody Function. *Front Immunol [Internet].* 9. August 2013 [zitiert 22. Mai 2021];4. Verfügbar unter: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3738878/>

47. Valenzuela NM, Schaub S. The Biology of IgG Subclasses and Their Clinical Relevance to Transplantation. *Transplantation.* Januar 2018;102(1S):S7.

48. Wozniak LJ, Venick RS. Donor-specific antibodies following liver and intestinal transplantation: Clinical significance, pathogenesis and recommendations. *Int Rev Immunol.* 4. Mai 2019;38(3):106–17.

49. Kaneku H, O’Leary JG, Taniguchi M, Susskind BM, Terasaki PI, Klintmalm GB. Donor-specific human leukocyte antigen antibodies of the immunoglobulin G3 subclass are associated with chronic rejection and graft loss after liver transplantation. *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc.* August 2012;18(8):984–92.

50. O’Leary JG, Kaneku H, Banuelos N, Jennings LW, Klintmalm GB, Terasaki PI. Impact of IgG3 subclass and C1q-fixing donor-specific HLA alloantibodies on rejection and survival in liver transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* April 2015;15(4):1003–13.

51. O’Leary JG, Kaneku H, Demetris AJ, Marr JD, Shiller SM, Susskind BM, Tillery GW, Terasaki PI, Klintmalm GB. Antibody Mediated Rejection as a Contributor to Previously Unexplained Early Liver Allograft Loss. *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc.* Februar 2014;20(2):218–27.

52. Bello AD, Congy-Jolivet N, Danjoux M, Muscari F, Lavayssière L, Esposito L, Cardeau-Desangles I, Guitard J, Dörr G, Milongo D, Suc B, Duffas JP, Alric L, Bureau C, Guilbeau-Frugier C, Rostaing L, Kamar N. De novo donor-specific anti-HLA antibodies mediated rejection in liver-transplant patients. *Transpl Int.* 2015;28(12):1371–82.

53. Miyagawa-Hayashino A, Yoshizawa A, Uchida Y, Egawa H, Yurugi K, Masuda S, Minamiguchi S, Maekawa T, Uemoto S, Haga H. Progressive graft fibrosis and donor-specific human leukocyte antigen antibodies in pediatric late liver allografts. *Liver Transpl.* 2012;18(11):1333–42.

54. Iacob S, Cicinnati VR, Dechêne A, Lindemann M, Heinemann FM, Rebmann V, Ferencik S, Sotiropoulos GC, Popescu I, Horn PA, Gerken G, Paul A, Beckebaum S. Genetic, immunological and clinical risk factors for biliary strictures following liver transplantation. *Liver Int.* 2012;32(8):1253–61.

55. Sebagh M, Rifai K, Féray C, Yilmaz F, Falissard B, Roche B, Bismuth H, Samuel D, Reynès M. All liver recipients benefit from the protocol 10-year liver biopsies. *Hepatology.* 2003;37(6):1293–301.

56. Demetris A. Importance of liver biopsy findings in immunosuppression management: Biopsy monitoring and working criteria for patients with operational tolerance. *Liver Transpl.* 2012;18(10):1154–70.

57. Update of the International Banff Schema for liver allograft rejection: Working recommendations for the histopathologic staging and reporting of chronic rejection. *Hepatology.* 2000;31(3):792–9.

58. Transaminasen [Internet]. Facharztwissen. 2015 [zitiert 1. Februar 2021]. Verfügbar unter: <https://www.medicoconsult.de/transaminasen/>
59. Mells G, Mann C, Hubscher S, Neuberger J. Late protocol liver biopsies in the liver allograft: a neglected investigation? *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc.* August 2009;15(8):931–8.
60. Neuberger J. Chronic allograft dysfunction: Diagnosis and management. Is it always progressive? *Liver Transpl.* 2005;11(S2):S63–8.
61. Mells G, Neuberger J. Protocol Liver Allograft Biopsies. *Transplantation.* 27. Juni 2008;85(12):1686–92.
62. Piccinino F, Sagnelli E, Pasquale G, Giusti G, Battocchia A, Bernardi M, Bertolazzi R, Bianchi FB, Brunelli E, Budillon G, Buscarini L, Cargnel A, Carrara G, Carulli N, Caruso L, Cataldi V, Celle G, Chiandussi L, Chiesa L, Colombo M, Coltorti M, De Bac C, Del Vecchio Blanco C, Di Marco G, Fiaccadori F, Filippazzo MG, Fornari F, Francavilla A, Frezza M, Gallo V, Galvani V, Givatto T, Iannuzzi C, Izzo CM, Le Moli S, Longo G, Magnani G, Manai M, Manenti F, Manghisi O, Manzillo G, Marengo G, Miglio F, Molino G, Mosca PG, Moschetta R, Panella C, Panichi G, Parrilli G, Pastore G, Peluso C, Picciotto A, Pilleri G, Pisi E, Ponz de Leon M, Rago M, Raimondo G, Realdi G, Rizzetto M, Rizzo A, Ronchi G, Rossi Fanelli F, Ruggiero G, Russo N, Satta A, Sansonno DE, Struglia C, Tolentino P, Tremolada F, Trischitta C, Verme G, Viganò P, Visco G, Zivelonghi P. Complications following percutaneous liver biopsy: A multicentre retrospective study on 68 276 biopsies. *J Hepatol.* 1. Januar 1986;2(2):165–73.
63. Hübscher SG. What is the long-term outcome of the liver allograft? *J Hepatol.* September 2011;55(3):702–17.
64. Cousin VL, Rougemont A-L, Rubbia-Brandt L, Wildhaber BE, Villard J, Ferrari-Lacraz S, McLin VA. Peripheral Donor-specific Antibodies Are Associated With Histology and Cellular Subtypes in Protocol Liver Biopsies of Pediatric Recipients. *Transplantation.* August 2020;104(8):1633–43.
65. Neuberger JM, Bechstein WO, Kuypers DRJ, Burra P, Citterio F, De Geest S, Duvoux C, Jardine AG, Kamar N, Krämer BK, Metselaar HJ, Nevens F, Pirenne J, Rodríguez-Perálvarez ML, Samuel D, Schneeberger S, Serón D, Trunečka P, Tisone G, van Gelder T. Practical Recommendations for Long-term Management of Modifiable Risks in Kidney and Liver Transplant Recipients: A Guidance Report and Clinical Checklist by the Consensus on Managing Modifiable Risk in Transplantation (COMMIT) Group. *Transplantation.* April 2017;101:S1–56.
66. Zhang R. Donor-Specific Antibodies in Kidney Transplant Recipients. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* 6. Januar 2018;13(1):182–92.
67. Muro M. The endless history or search for the true role of alloantibodies in liver transplantation. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* Oktober 2020;S2210740120302850.
68. Fung J, Makowka L, Tzakis A, Klintmalm G, Duquesnoy R, Gordon R, Todo S, Griffin M, Starzl T. Combined Liver-Kidney Transplantation: Analysis of Patients With Preformed Lymphocytotoxic Antibodies. *Transplant Proc.* Februar 1988;20(1 Suppl 1):88–91.
69. Dar W, Agarwal A, Watkins C, Gebel HM, Bray RA, Kokko KE, Pearson TC, Knechtle SJ. Donor-Directed MHC Class I Antibody Is Preferentially Cleared from Sensitized Recipients of Combined Liver/Kidney Transplants. *Am J Transplant.* 2011;11(4):841–7.
70. O’Leary JG, Kaneku H, Susskind BM, Jennings LW, Neri MA, Davis GL, Klintmalm GB, Terasaki PI. High mean fluorescence intensity donor-specific anti-HLA antibodies associated with chronic rejection Postliver transplant. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* September 2011;11(9):1868–76.
71. Organspende – „Situation ist beschämend“ [Internet]. *AerzteZeitung.de.* [zitiert 22. April 2021]. Verfügbar unter: <https://www.aerztezeitung.de/Politik/Organspende-Situation-ist-beschaemend-402543.html>

72. GmbH A-MDA. Therapeutisches Drug Monitoring: Arzneimitteltherapie nach Maß [Internet]. Pharmazeutische Zeitung online. [zitiert 22. April 2021]. Verfügbar unter: <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/ausgabe-292018/arzneimitteltherapie-nach-mass/>
73. Schirmacher P, Fleig WE, Tannapfel A, Langner C, Dries V, Terracciano L, Denk H, Dienes HP. Bioptische Diagnostik der chronischen Hepatitis: Ergebnisse einer evidenzbasierten Konsensuskonferenz der Deutschen Gesellschaft für Pathologie (DGP), der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) und des Kompetenznetzes Hepatitis (HepNet). *Pathol* [Internet]. September 2004 [zitiert 5. Januar 2021];25(5). Verfügbar unter: <http://link.springer.com/10.1007/s00292-004-0692-7>
74. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: Diagnosis, grading and staging. *Hepatology*. 1994;19(6):1513–20.
75. Jung S, Oh EJ, Yang CW, Ahn WS, Kim Y, Park YJ, Han K. [Comparative evaluation of ELISA and Luminex panel reactive antibody assays for HLA alloantibody screening]. *Korean J Lab Med*. Oktober 2009;29(5):473–80.
76. Lachmann N, Todorova K, Schulze H, Schönemann C. Luminex® and Its Applications for Solid Organ Transplantation, Hematopoietic Stem Cell Transplantation, and Transfusion. *Transfus Med Hemotherapy*. Juni 2013;40(3):182–9.
77. Weiß C. Basiswissen Medizinische Statistik [Internet]. 7. Aufl. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2019 [zitiert 13. Januar 2021]. (Springer-Lehrbuch). Verfügbar unter: <https://www.springer.com/de/book/9783662565872>
78. Priestersbach A, Röhrig B, Prel J-B du, Gerhold-Ay A, Blettner M. Descriptive Statistics. *Dtsch Aerzteblatt Online* [Internet]. 4. September 2009 [zitiert 13. Januar 2021]; Verfügbar unter: <https://www.aerzteblatt.de/10.3238/arztebl.2009.0578>
79. Ärzteblatt DÄG Redaktion Deutsches. Auswahl statistischer Testverfahren [Internet]. *Deutsches Ärzteblatt*. 2010 [zitiert 13. Januar 2021]. Verfügbar unter: <https://www.aerzteblatt.de/archiv/74880/Auswahl-statistischer-Testverfahren>
80. Gül-Klein S, Hegermann H, Röhle R, Schmelzle M, Tacke F, Schöning W, Öllinger R, Dziudzio T, Maier P, Plewe JM, Horst D, Sauer IM, Pratschke J, Lachmann N, Eurich D. Donor-Specific Antibodies Against Donor Human Leukocyte Antigen are Associated with Graft Inflammation but Not with Fibrosis Long-Term After Liver Transplantation: An Analysis of Protocol Biopsies. *J Inflamm Res*. 2021;14:2697–712.
81. Nedredal GI, Picon RV, Chedid MF, Foss A. Immunosuppression in Liver Transplantation: State of the Art and Future Perspectives. *Curr Pharm Des*. 2020;26(28):3389–401.
82. Feng S, Bucuvalas JC, Demetris AJ, Burrell BE, Spain KM, Kanaparthi S, Magee JC, Ikle D, Lesniak A, Lozano JJ, Alonso EM, Bray RA, Bridges NE, Doo E, Gebel HM, Gupta NA, Himes RW, Jackson AM, Lobritto SJ, Mazariegos GV, Ng VL, Rand EB, Sherker AH, Sundaram S, Turmelle YP, Sanchez-Fueyo A. Evidence of Chronic Allograft Injury in Liver Biopsies From Long-term Pediatric Recipients of Liver Transplants. *Gastroenterology*. Dezember 2018;155(6):1838-1851.e7.
83. Varma S, Ambrose J, Komuta M, Latinne D, Baldin P, Reding R, Smets F, Stephenne X, Sokal EM. Progressive Fibrosis Is Driven by Genetic Predisposition, Allo-immunity, and Inflammation in Pediatric Liver Transplant Recipients. *EBioMedicine*. 1. Juli 2016;9:346–55.
84. Furman D, Campisi J, Verdin E, Carrera-Bastos P, Targ S, Franceschi C, Ferrucci L, Gilroy DW, Fasano A, Miller GW, Miller AH, Mantovani A, Weyand CM, Barzilai N, Goronzy JJ, Rando TA, Effros RB, Lucia A, Kleinsteuber N, Slavich GM. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat Med*. Dezember 2019;25(12):1822–32.
85. Straub RH, Schradin C. Chronic inflammatory systemic diseases: An evolutionary trade-off between acutely beneficial but chronically harmful programs. *Evol Med Public Health*. 27. Januar 2016;2016(1):37–51.

86. Siegrist C-A, Aspinall R. B-cell responses to vaccination at the extremes of age. *Nat Rev Immunol.* März 2009;9(3):185–94.
87. Kaneku H, O’Leary JG, Banuelos N, Jennings LW, Susskind BM, Klintmalm GB, Terasaki PI. De Novo Donor-Specific HLA Antibodies Decrease Patient and Graft Survival in Liver Transplant Recipients. *Am J Transplant.* 2013;13(6):1541–8.
88. Bulló M, García-Lorda P, Megias I, Salas-Salvadó J. Systemic Inflammation, Adipose Tissue Tumor Necrosis Factor, and Leptin Expression. *Obes Res.* 2003;11(4):525–31.
89. Andersen CJ, Murphy KE, Fernandez ML. Impact of Obesity and Metabolic Syndrome on Immunity. *Adv Nutr.* 7. Januar 2016;7(1):66–75.
90. Karlsson EA, Sheridan PA, Beck MA. Diet-induced obesity in mice reduces the maintenance of influenza-specific CD8⁺ memory T cells. *J Nutr.* September 2010;140(9):1691–7.
91. Kolb R, Sutterwala FS, Zhang W. Obesity and cancer: inflammation bridges the two. *Curr Opin Pharmacol.* August 2016;29:77–89.
92. Molinero LL, Yin D, Lei K, Chen L, Wang Y, Chong AS, Alegre M-L. High Fat Diet-induced Obesity Enhances Allograft Rejection. *Transplantation.* Mai 2016;100(5):1015–21.
93. Schnitzbauer AA, Filmann N, Adam R, Bachellier P, Bechstein WO, Becker T, Bhoori S, Bilbao I, Brockmann J, Burra P, Chazoullières O, Cillo U, Colledan M, Duvoux C, Ganten TM, Gugenheim J, Heise M, van Hoek B, Jamieson N, de Jong KP, Klein CG, Klempnauer J, Kneteman N, Lerut J, Mäkisalo H, Mazzaferro V, Mirza DF, Nadalin S, Neuhaus P, Pageaux G-P, Pinna AD, Pirenne J, Pratschke J, Powel J, Rentsch M, Rizell M, Rossi G, Rostaing L, Roy A, Scholz T, Settmacher U, Soliman T, Strasser S, Söderdahl G, Troisi RI, Turrión VS, Schlitt HJ, Geissler EK. mTOR Inhibition Is Most Beneficial After Liver Transplantation for Hepatocellular Carcinoma in Patients With Active Tumors. *Ann Surg.* November 2020;272(5):855–62.
94. Vivarelli M, Dazzi A, Zanella M, Cucchetti A, Cescon M, Ravaioli M, Del Gaudio M, Lauro A, Grazi GL, Pinna AD. Effect of Different Immunosuppressive Schedules on Recurrence-Free Survival After Liver Transplantation for Hepatocellular Carcinoma. *Transplantation.* 27. Januar 2010;89(2):227–31.
95. Vivarelli M, Cucchetti A, Barba GL, Ravaioli M, Del Gaudio M, Lauro A, Grazi GL, Pinna AD. Liver Transplantation for Hepatocellular Carcinoma Under Calcineurin Inhibitors: Reassessment of Risk Factors for Tumor Recurrence. *Ann Surg.* November 2008;248(5):857–62.
96. Koehl GE, Andrassy J, Guba M, Richter S, Kroemer A, Scherer MN, Steinbauer M, Graeb C, Schlitt HJ, Jauch K-W, Geissler EK. RAPAMYCIN PROTECTS ALLOGRAFTS FROM REJECTION WHILE SIMULTANEOUSLY ATTACKING TUMORS IN IMMUNOSUPPRESSED MICE. *Transplantation.* 15. Mai 2004;77(9):1319–26.
97. Willuweit K, Heinold A, Rashidi-Alavijeh J, Heinemann FM, Horn PA, Paul A, Gerken G, Herzer K. Immunosuppression with mTOR inhibitors prevents the development of donor-specific antibodies after liver transplant. *Clin Transplant.* 2017;31(6):e12974.
98. Narumi S, Watarai Y, Goto N, Hiramitsu T, Tsujita M, Okada M, Futamura K, Tomosugi T, Nishihira M, Sakamoto S, Kobayashi T. Everolimus-based Immunosuppression Possibly Suppresses Mean Fluorescence Intensity Values of De Novo Donor-specific Antibodies After Primary Kidney Transplantation. *Transplant Proc.* Juni 2019;51(5):1378–81.
99. Rigol M, Solanes N, Sionis A, Gálvez C, Martorell J, Rojo I, Brunet M, Ramírez J, Roqué M, Roig E, Pérez-Villa F, Barquín L, Pomar JL, Sanz G, Heras M. Effects of Cyclosporine, Tacrolimus and Sirolimus on Vascular Changes Related to Immune Response. *J Heart Lung Transplant.* 1. April 2008;27(4):416–22.
100. Baumann AK, Schlue J, Noyan F, Hardtke-Wolenski M, Lehner F, Barg-Hock H, Klempnauer J, Manns MP, Taubert R, Jaeckel E. Preferential accumulation of T helper cells but not cytotoxic T cells characterizes benign subclinical rejection of human liver allografts. *Liver Transpl.* 2016;22(7):943–55.

101. Bartlett AS, Ramadas R, Furness S, Gane E, McCall JL. The natural history of acute histologic rejection without biochemical graft dysfunction in orthotopic liver transplantation: a systematic review. *Liver Transplant Off Publ Am Assoc Study Liver Dis Int Liver Transplant Soc*. Dezember 2002;8(12):1147–53.
102. Loupy A, Vernerey D, Tinel C, Aubert O, Huyen J-PD van, Rabant M, Verine J, Nochy D, Empana J-P, Martinez F, Glotz D, Jouven X, Legendre C, Lefaucheur C. Subclinical Rejection Phenotypes at 1 Year Post-Transplant and Outcome of Kidney Allografts. *J Am Soc Nephrol*. 1. Juli 2015;26(7):1721–31.
103. Höfer A, Jonigk D, Hartleben B, Verboom M, Hallensleben M, Hübscher SG, Manns MP, Jaeckel E, Taubert R. DSA Are Associated With More Graft Injury, More Fibrosis, and Upregulation of Rejection-associated Transcripts in Subclinical Rejection. *Transplantation*. März 2020;104(3):551–61.
104. Saunders EA, Engel B, Höfer A, Hartleben B, Vondran FWR, Richter N, Potthoff A, Zender S, Wedemeyer H, Jaeckel E, Taubert R. Outcome and safety of a surveillance biopsy guided personalized immunosuppression program after liver transplantation. *Am J Transplant* [Internet]. [zitiert 5. Dezember 2021];n/a(n/a). Verfügbar unter: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ajt.16817>
105. Beyzaei Z, Geramizadeh B, Bagheri Z, Karimzadeh S, Shojazadeh A. De Novo Donor Specific Antibody and Long-Term Outcome After Liver Transplantation: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Immunol* [Internet]. 2020 [zitiert 18. Juli 2021];0. Verfügbar unter: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.613128/full>
106. Levitsky J, Kaneku H, Jie C, Walsh RC, Abecassis M, Tambur AR. Donor-Specific HLA Antibodies in Living Versus Deceased Donor Liver Transplant Recipients. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. August 2016;16(8):2437–44.
107. Ohe H, Uchida Y, Yoshizawa A, Hirao H, Taniguchi M, Maruya E, Yurugi K, Hishida R, Maekawa T, Uemoto S, Terasaki PI. Association of anti-human leukocyte antigen and anti-angiotensin II type 1 receptor antibodies with liver allograft fibrosis after immunosuppression withdrawal. *Transplantation*. 27. November 2014;98(10):1105–11.
108. Feng S, Ekong UD, Lobritto SJ, Demetris AJ, Roberts JP, Rosenthal P, Alonso EM, Philogene MC, Ikle D, Poole KM, Bridges ND, Turka LA, Tchao NK. Complete immunosuppression withdrawal and subsequent allograft function among pediatric recipients of parental living donor liver transplants. *JAMA*. 18. Januar 2012;307(3):283–93.
109. Altamirano-Barrera A, Barranco-Fragoso B, Méndez-Sánchez N. Management Strategies for Liver Fibrosis. *Ann Hepatol*. 1. Januar 2017;16(1):48–56.
110. Chanpong A, Angkathunyakul N, Sornmayura P, Tanpowpong P, Lertudomphonwanit C, Panpikoon T, Treepongkaruna S. Late allograft fibrosis in pediatric liver transplant recipients: Assessed by histology and transient elastography. *Pediatr Transplant*. 2019;23(7):e13541.
111. Kim PTW, Demetris AJ, O’Leary JG. Prevention and treatment of liver allograft antibody-mediated rejection and the role of the „two-hit hypothesis“. *Curr Opin Organ Transplant*. April 2016;21(2):209–18.
112. Teegen EM, Dürr M, Maurer MM, Eurich F, Vollbort A, Globke B, Bahra M, Blaeker H, Pratschke J, Eurich D. Evaluation of histological dynamics, kidney function and diabetes in liver transplant patients after antiviral treatment with direct-acting antivirals: Therapy of HCV-recurrence. *Transpl Infect Dis Off J Transplant Soc*. Februar 2019;21(1):e13020.
113. Ayres RC, Neuberger JM, Shaw J, Joplin R, Adams DH. Intercellular adhesion molecule-1 and MHC antigens on human intrahepatic bile duct cells: effect of pro-inflammatory cytokines. *Gut*. September 1993;34(9):1245–9.
114. Fontes P, Lopez R, van der Plaats A, Vodovotz Y, Minervini M, Scott V, Soltys K, Shiva S, Paranjpe S, Sadowsky D, Barclay D, Zamora R, Stolz D, Demetris A, Michalopoulos G, Marsh JW. Liver Preservation With Machine Perfusion and a Newly Developed Cell-Free

- Oxygen Carrier Solution Under Subnormothermic Conditions. *Am J Transplant*. Februar 2015;15(2):381–94.
115. Takaya S, Jain A, Yagihashi A, Nakamura K, Kobayashi M, Takeuchi K, Suzuki S, Iwaki Y, Demetris AJ, Todo S, Fung JJ, Starzl TE. Increased Bile Duct Complications and/or Chronic Rejection in Crossmatch Positive Human Liver Allografts. *Transplant Proc*. August 1999;31(5):2028–31.
116. Musat AI, Agni RM, Wai PY, Pirsch JD, Lorentzen DF, Powell A, Levenson GE, Bellingham JM, Fernandez LA, Foley DP, Mezrich JD, D'Alessandro AM, Lucey MR. The significance of donor-specific HLA antibodies in rejection and ductopenia development in ABO compatible liver transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. März 2011;11(3):500–10.
117. den Dulk AC, Shi X, Verhoeven CJ, Dubbeld J, Claas FHJ, Wolterbeek R, Brand-Schaaf SH, Verspaget HW, Sarasqueta AF, van der Laan LJW, Metselaar HJ, van Hoek B, Kwekkeboom J, Roelen DL. Donor-specific anti-HLA antibodies are not associated with nonanastomotic biliary strictures but both are independent risk factors for graft loss after liver transplantation. *Clin Transplant*. Februar 2018;32(2).
118. Saelens EM, Van Biervliet S, Vande Velde S, Van Winckel M, Rogiers X, Vanlander A, Daniëls L, Bonroy C, De Bruyne RML. Autoantibodies and Donor-specific Antibodies are Associated With Graft Dysfunction in Pediatric Liver Transplantation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. Mai 2021;72(5):661–6.
119. Barreto SG, Brooke-Smith ME, Neo EL, Dolan P, Leibbrandt R, Emery T, Carroll R, Wigg A, Chen JW. Exploring pre-surgery donor-specific antibodies in the context of organ shortage in liver transplant. *Langenbecks Arch Surg*. 1. November 2019;404(7):865–74.
120. O'Leary JG, Kaneku H, Jennings LW, Bañuelos N, Susskind BM, Terasaki PI, Klintmalm GB. Preformed class II donor-specific antibodies are associated with an increased risk of early rejection after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2013;19(9):973–80.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Henriette Hegermann, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Einfluss spenderspezifischer Antikörper auf das Lebertransplantat im Langzeitverlauf/Impact of donor specific antibodies on the liver graft in long-term course“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Henriette Hegermann hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation: Safak Gül-Klein, Henriette Hegermann, Robert Röhle, Moritz Schmelzle, Frank Tacke, Wenzel Schöning, Robert Öllinger, Tomasz Dziodzio, Patrick Maier, Julius M Plewe, David Horst, Igor Maximilian Sauer, Johann Pratschke, Nils Lachmann, Dennis Eurich: Donor-Specific Antibodies Against Donor Human Leukocyte Antigen are Associated with Graft Inflammation but Not with Fibrosis Long-Term After Liver Transplantation: An Analysis of Protocol Biopsies; Journal of Inflammation Research 2021

Beitrag im Einzelnen:

Frau Hegermanns Anteil an dieser Publikation lag in der Datenakquise sowie -auswertung, ebenso in der Beteiligung an der Artikelverfassung. Ihre statistische Auswertung war Grundlage für die Tabellen 1-7 und die Abbildung 1 und 2 der oben aufgeführten Publikation. Des Weiteren wurden alle für die Publikation wiedergegebenen Ergebnisse durch sie errechnet und ausgewertet. Eine entsprechende Kennzeichnung wurde in dieser Arbeit vorgenommen. Die Tabellen und Abbildungen sind teilweise in abgewandelter Form wiedergegeben.

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers

Unterschrift der Doktorandin

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationsliste

1. Safak Gül-Klein, Henriette Hegermann, Robert Röhle, Moritz Schmelzle, Frank Tacke, Wenzel Schöning, Robert Öllinger, Tomasz Dziodzio, Patrick Maier, Julius M Plewe, David Horst, Igor Maximilian Sauer, Johann Pratschke, Nils Lachmann, Dennis Eurich: Donor-Specific Antibodies Against Donor Human Leukocyte Antigen are Associated with Graft Inflammation but Not with Fibrosis Long-Term After Liver Transplantation: An Analysis of Protocol Biopsies; Journal of Inflammation Research 2021;14:2697-2712
<https://doi.org/10.2147/JIR.S307778>

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt PD Dr. Dennis Eurich, der diese Arbeit sowohl durch die Überlassung des Dissertationsthemas als auch durch seine stetige Unterstützung, Geduld und kritische Durchsicht des Manuskripts möglich gemacht hat.

Des Weiteren möchte ich im Speziellen PD Dr. Safak Gül-Klein für ihre sehr gute Betreuung danken. Ohne ihren unermüdlichen Rat und ihre Motivation, hätte ich es nicht so weit geschafft.

Weiterhin möchte ich Michael Hippler-Benscheidt, Dr. Nils Lachmann und M. Sc. Robert Röhle danken, deren Unterstützung im Einzelnen einen großen Teil dieser Arbeit ermöglicht hat.

Außerdem möchte ich meiner Familie für den Zuspruch und die Durchsicht und besonders meiner Schwester, Johanna Hegermann, für das inoffizielle sowie unentgeltliche Lektorat danken.

Mein letzter Dank gilt meinem Freund Marcel, dessen Vertrauen in mich und mein Können mich zu diesem Punkt gebracht haben.

Bescheinigung Statistik



CharitéCentrum für Human- und Gesundheitswissenschaften

Charité | Campus Charité Mitte | 10117 Berlin

Institut für Biometrie und Klinische Epidemiologie (iBiKE)

Direktor: Prof. Dr. Geraldine Rauch

Name, Vorname: Hegermann, Henriette
Emailadresse: henriette.hegermann@charite.de
Matrikelnummer: 219596
PromotionsbetreuerIn: Eurich, Dennis
Promotionsinstitution/ Klinik: CC08 Chirurgische Klinik
Campus Virchow-Klinikum

Postanschrift:
Charitéplatz 1 | 10117 Berlin
Besucheranschrift:
Reinhardtstr. 58 | 10117 Berlin
Tel. +49 (0)30 450 562171
geraldine.rauch@charite.de
<https://biometrie.charite.de/>



Bescheinigung

Hiermit bescheinige ich, dass Frau *Henriette Hegermann* innerhalb der Service Unit Biometrie des Instituts für Biometrie und Klinische Epidemiologie (iBiKE) bei mir eine statistische Beratung zu einem Promotionsvorhaben wahrgenommen hat. Folgende Beratungstermine wurden wahrgenommen:

- Termin 1: *31.05.2019*
- Termin 2: *17.07.2020*

Folgende wesentliche Ratschläge hinsichtlich einer sinnvollen Auswertung und Interpretation der Daten wurden während der Beratung erteilt:

- Schwerpunkt auf Deskription der Daten legen
- ggf. *Auswertung mittels χ^2 -Test bzw. Mann-Whitney-U Test (p-Werte haben nur explorativen Charakter, multiples Testen beachten)*
- *Deskriptive Untersuchung von konfundierenden Variablen*

Diese Bescheinigung garantiert weder die richtige Umsetzung der in der Beratung gemachten Vorschläge, die korrekte Durchführung der empfohlenen statistischen Verfahren noch die richtige Darstellung und Interpretation der Ergebnisse. Die Verantwortung hierfür obliegt allein dem Promovierenden. Das Institut für Biometrie und Klinische Epidemiologie übernimmt hierfür keine Haftung.

Datum: 17.07.2020

Name des Beraters: Claus Nowak

Unterschrift Berater, Institutsstempel

